FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNEE 1966

THÈSE

N° 757

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

DIPLOME D'ETAT

PAR

Jean-Marie LACORRE

né le 5 août 1938 à REIMS (Marne)

Interne du C. H. U. de Reims

Présentée et soutenue publiquement le :

CONTRIBUTION A L'ETUDE ET AU DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES BRONCHOPNEUMOPATHIES NON BACTERIENNES PRIMITIVES DU NOURRISSON

Président : M. TOURNIER, Professeur.

EDITIONS A.G.E.M.P. — 8, RUE DANTE - PARIS-Ve

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNEE 1966 **THÈSE** N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

DIPLOME D'ETAT

PAR

Jean-Marie LACORRE
né le 5 août 1938 à REIMS (Marne)
Interne du C. H. U. de Reims

Présentée et soutenue publiquement le :

CONTRIBUTION A L'ETUDE ET AU DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES BRONCHOPNEUMOPATHIES NON BACTERIENNES PRIMITIVES DU NOURRISSON

Président : M. TOURNIER, Professeur.

EDITIONS A.G.E.M.P. — 8, RUE DANTE - PARIS-Ve

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN

1/1/1966

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. Alajouanine (T.), Aubin (A.), Bénard (H.), Binet (L.), Bulliard (H.), Cathala (J.), Chabrol (E.), Chailley-Bert (P.), Debré (R.), Fey (B.), Galliard (H.), Gaudart d'Allaines (F. de), Gennes (L. de), Halphen (E.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Laroche (G.), Lavier (G.), Lelong (M.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Marchal (G.), Mathieu (P.), Monod (R.), Moreau (R.), Moulonguet (P.), Pasteur Vallery-Radot, Petit-Dutaillis (D.), Piédelièvre (R.), Quénu (J.), Renard (G.), Richet (C.), Senèque (J.), Strohl (A.), Tanon (L.), Verne (J.).

DOYEN . . . . . Georges BROUET.

1er ASSESSEUR . . . . . Daniel BARGETON

2e ASSESSEUR . . . . . Jean GOSSET

I. — PROFESSEURS

1° CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

a) Professeurs titulaires :

	MM.
Anatomie	DELMAS (A.)
Anatomie et cytologie pathologiques	DELARUE (J.)
Anesthésiologie	BAUMANN (J.)
Bactériologie et virologie	TOURNIER (P.)
Biochimie médicale	JAYLE (M.-F.)
—	POLONOVSKI (J.)
Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports	MALMEJAC (J.)
Biologie médicale	FAUVERT (R.)
Biophysique médicale	BUGNARD (L.)
—	DOGNON (A.)
—	DJOURNO (A.)
Cancérologie médicale et sociale	DENOIX (P.)
Chimie pathologique	SCHAPIRA (G.)
Embryologie	TUCHMANN (H.)
Génétique fondamentale	LEJEUNE (J.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie	COURY (Ch.)
Histologie	GIROUD (A.)
Hygiène et médecine préventive	BOYER (J.)
Médecine du Travail	DESOILLE (H.)
Médecine légale	DEROBERT (L.)
Microbiologie (Bactériologie et virologie)	FASQUELLE (R.)
Parasitologie	BRUMPT (L.-C.)
Pathologie chirurgicale	LAURENCE (G.)
—	KUSS (R.)
—	VERNE (J.-M.)
Pathologie exotique	N...
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F.-P.)
Pathologie médicale	LAROCHE (Cl.)
—	BRICAIRE (H.)
—	PÉQUIGNOT (H.)
Pathologie respiratoire	TURIAF (J.)
Pathologie et thérapeutique générales	N...
Pharmacologie	CHEYMOL (J.)
—	LEVY (Mlle J.)
Physiologie	BARGETON (D.)
—	PARROT (J.)
Physiologie et pathologie obstétricales	LEPAGE (F.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)

	MM.
Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale	CAUCHOIX (J.)
Thérapeutique	CONTE (M.)
Thérapeutique appliquée	LAMOTTE (M.)

b) Professeurs à titre personnel :

Anatomie anthropologique	OLIVIER (G.)
Anatomie pathologique	NEZELOF (Ch.)
Bactériologie	BARBIER (P.)
Biochimie médicale	DESGREZ (P.) / DREYFUS (J.-Cl.)
Biologie médicale	BOURLIÈRE (F.)
Histologie	COUJARD (R.)
Parasitologie	LARIVIÈRE (M.)
Pathologie expérimentale	LOEPER (J.) / RICHET (G.)
Physiologie	DEJOURS (P.) / ROUCAYROL (J.-Cl.) / SCHERRER (J.)
Physique médicale	KELLERSHOHN (L.) / GOUGEROT (L.) / TUBIANA (M.)
Radiologie médicale	FISCHGOLD (H.)

2° CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

a) Professeurs titulaires :

		MM.
Clinique carcinologique chirurgicale (Necker)		REDON (H.)
Clinique cardiologique (Broussais)		SOULIÉ (P.)
— — (Boucicaut)		LENÈGRE (J.)
Cliniques chirurgicales	Beaujon	LORTAT-JACOB (J.-L.)
	—	N...
	Cochin	LEGER (L.)
	Hôtel-Dieu	PATEL (J.)
	Saint-Antoine	GOSSET (J.)
	Salpêtrière	SICARD (A.)
	Tenon	OLIVIER (Cl.)
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique (Cochin)		MERLE d'AUBIGNÉ (R.)
— — — (Foch)		PADOVANI (P.)
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants-Malades)		FÈVRE (M.)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)		DUBOST (Ch.)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laennec)		MATHEY (J.)
Clinique dermatologique (Saint-Louis)		DUPERRAT (F.)
Clinique endocrinologique (Pitié)		DECOURT (J.)
Clinique de Génétique médicale (Enfants-Malades)		LAMY (M.)
Clinique gynécologique (Broca)		HUGUIER (J.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (Saint-Louis)		DEGOS (R.)
Clinique des maladies des enfants (Enfants-Malades)		TURPIN (R.)
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard)		MOLLARET (P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne)		DELAY (J.)
Clinique des maladies métaboliques (Necker)		HAMBURGER (J.)
Clinique des maladies du sang (Broussais)		BERNARD (J.)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)		CASTAIGNE (P.)
Cliniques médicales	Bicêtre	DEPARIS (M.)
	Broussais	MILLIEZ (P.)
	Cochin	BROUET (G.)
	Hôtel-Dieu	BARIÉTY (M.)
	Lariboisière	SÈZE (S. de)
	Pitié	DREYFUS (G.)
	Saint-Antoine	KOURILSKY (R.)
	Saint-Antoine	BOUDIN (G.)

	MM.
Clinique d'hydrologie et de climatologie (Bichat)	DEBRAY (Ch.)
Clinique médicale infantile et pédiatrie sociale (Enfants-Malades)	MARIE (J.)
Clinique médicale propédeutique (Broussais)	JUSTIN-BESANÇON (L.)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition (Hôtel-Dieu)	DEROT (M.)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)	DAVID (M.)
Clinique neurologique (Salpêtrière)	GARCIN (R.)
Cliniques obstétricales — Baudelocque	LACOMME (M.)
Cliniques obstétricales — Saint-Antoine	MERGER (R.)
Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal)	VARANGOT (J.)
Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu)	OFFRET (G.)
— — (Cochin)	BREGEAT (P.)
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)	AUBRY (M.)
Clinique de pédiatrie	MOZZICONACCI (P.)
Clinique de pédiatrie et de puériculture (Saint-Vincent-de-Paul)	THIEFFRY (S.)
Clinique de pneumo-phtisiologie (Laennec)	BERNARD (E.)
Clinique de neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière)	MICHAUX (L.)
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)	COSTE (F.)
Clinique stomatologique (Salpêtrière)	DECHAUME (M.)
Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard)	ROUX (M.)
Clinique thérapeutique médicale (Saint-Antoine)	LEMAIRE (A.)
Clinique toxicologique	GAULTIER (M.)
Clinique traumatologique et orthopédique (R.-Poincaré)	JUDET (R.)
Clinique urologique (Cochin)	ABOULKER (P.)
— — (Necker)	COUVELAIRE (R.)
Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau)	LAPLANE (R.)
Séméiologie médicale (A. Chantin)	DOMART (A.)
— — (Lariboisière)	BOUVRAIN (Y.)
— — (Pitié)	RAMBERT (P.)
— — (Rothschild)	WOLFROMM (R.)
Séméiologie et clinique chirurgicales (Broussais)	POILLEUX (F.)

b) **Professeurs à titre personnel :**

Hématologie	ANDRÉ (R.)
	BOUSSER (J.)
Hydrologie et climatologie	GIBERTON (A.)
Maladies infectieuses	BASTIN (R.)
Médecine	AZERAD (E.)
	BOUR (H.)
	CABROL (Ch.)
	GROSSIORD (A.)
	LAMBLING (A.)
	LAUNAY (Cl.)
	PAYET (M.)
	PERRAULT (M.)
	SIGUIER (F
	WORMS (R.)
Neuro-chirurgie	LE BEAU (J.)
Neurologie	LHERMITTE F.
Neuro-psychiatrie	PICHOT (P.)
Oto-Rhino-Laryngologie	MADURO (R.)
Pédiatrie	POLONOVSKI (Cl.)
	ROYER (P.)
Pneumo-Phtisiologie	KREIS (B.)
	MEYER (A.)
Rhumatologie	DELBARRE (F.)

II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE

	MM.
Anatomie pathologique	BOUYSOU (Ch.)
Anesthésiologie	VOURC'H (G.)
Bactériologie	CHRISTOL (D.)
Biochimie médicale	CARTIER (P.) GONNARD (P.)
Biologie médicale	HARTMANN (L.)
Hématologie	BILSKI-PASQUIER (S.)
Maladies infectieuses	DUPONT (V.)
Physique médicale	COURSAGET (J.) GREMY (F.)
Physiologie	GIRARD (Fr.)
Stomatologie	CHAPUT (Mme A.)
Thérapeutique	CHASSAGNE (P.)

III. — PROFESSEURS DÉTACHÉS DANS LES UNIVERSITÉS ÉTRANGÈRES

Bactériologie	HAUDUROY (P.) Pr. s. ch
Pathologie chirurgicale	RUDLER (J.) Pr. s. ch.

IV. — PROFESSEUR ASSOCIÉ

Statistique médicale et épidémiologique	SCHWARTZ (D.)

Secrétaire général de la Faculté	M. LENA (J.)
Conseillers administratifs	Mlle CHAINTREUIL (G.) M. FAYE (R.)
Conservateur en Chef de la Bibliothèque. Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine	M. le Docteur HAHN (A.)
Conservateurs	Mlles DUMAITRE (P.), LAURENT (H.), LE NOIR (G.),
Bibliothécaires	Mmes CONTET (J.), FORGET (F.), Mlles DUROZOY (M.-F.), ROBERGE (D.), Dr SCHILLER (J.)

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A Monsieur le Professeur Paul TOURNIER

Professeur de Bactériologie et Virologie à
la Faculté de Médecine de Paris.

En témoignage de notre profond
respect et de notre vive gratitude pour
le grand honneur qu'il nous fait de bien
vouloir accepter la présidence de notre
thèse.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544322_0004

A Monsieur le Professeur Louis VILDE

Directeur de l'Ecole de Médecine et de Pharmacie
de Reims
Professeur Agrégé de Pathologie Médicale
Médecin des Hôpitaux de Reims
Chevalier de la Légion d'Honneur
Officier des Palmes académiques.

Son enseignement nous a profondément marqué.

En respectueux hommage.

A Monsieur le Docteur Jacques BOY

Maître de Conférence Agrégé d'Hématologie
Médecin Biologiste des Hôpitaux de REIMS
Directeur du Centre de Transfusion Sanguine de REIMS

Pour la bienveillante sollicitude et l'enseignement qu'il nous prodigue en témoignage de notre reconnaissance et de notre respectueux dévouement.

A Monsieur le Docteur Michel FANDRE

Maître de Conférence Agrégé de Pathologie Médicale
Médecin des Hôpitaux de REIMS
Chef du Service de Pédiatrie de l'American Memorial Hospital.

Il fut notre premier Maître, lorsque en 1958 nous fîmes nos premiers pas d'externe provisoire dans son Service. Il nous a permis d'utiliser pour notre travail les observations cliniques des malades de son service. Qu'il reçoive tous nos remerciements et notre respectueux hommage.

A Monsieur le Docteur Gérard DROPSY

Maître de Conférence Agrégé de Bactériologie
Médecin Biologiste des Hôpitaux de Reims

Depuis le début de nos études de microbiologie son enseignement nous fut précieux. Il nous a inspiré le sujet de cette thèse, son aide et ses conseils nous ont permis de mener à bien notre travail.

Qu'il reçoive l'expression de notre reconnaissance et de nos sentiments amicaux et respectueux.

A Monsieur le Docteur François PENNAFORTE

Chef de Clinique-Assistant en Pédiatrie.

Il nous apporta une aide précieuse pour la partie clinique de notre travail.

Qu'il reçoive nos remerciements et nos sentiments amicaux.

A nos Maîtres : Médecins, Chirurgiens, Spécialistes des Hôpitaux de REIMS,

qui, au cours de nos années d'Externat et d'Internat, nous ont dispensé leur enseignement.

A nos Professeurs de l'Ecole de Médecine de REIMS et de la Faculté de Médecine de PARIS,

qu'ils trouvent ici toute notre sincère reconnaissance.

Travail effectué avec l'aide de l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale.

Service de Pédiatrie et Laboratoire de Microbiologie de L'American Memorial Hospital (C. H. U. de REIMS)

P L A N

INTRODUCTION 3

CHAPITRE I - LES AGENTS RESPONSABLES 6

I - "Les MYXO VIRUS"..... 7

A - Myxovirus Influenzae Hominis (virus grippaux)..... 8

B - Les virus Para Influenzae..... 13

C - Le V.R.S. (Bronchovirus Syncytialis)..... 17

II - Les ADENOVIRUS 19

III - Les PICORNAVIRUS 23

A - Caractères généraux 23

B - Les ECHO-VIRUS 25

C - Les virus COXSACKIES 26

D - Les RHINO-virus 28

IV - Les REO-VIRUS..... 30

V - Les MIYAGAWANELLES..... 32

VI - COXIELLA BURNETII 35

VII - L'agent d'EATON 38

CHAPITRE II - LES TECHNIQUES ET METHODES DE LABORATOIRE.... 42

I - Les prélèvements 43

A - Pour isolement de l'Agent 43
B - Pour sérologie 45

II - Les techniques d'isolement 46

III - Les techniques sérologiques 5I

IV - Tableau des différents examens réalisés 6I

CHAPITRE III - ETUDES CLINIQUES ET ETIOLOGIQUES 62

I - Clinique : Les différents syndromes individualisables..... 63
II - Recherches étiologiques de différents auteurs 72
III - Etude locale 8O
IV - Essais de différenciation clinique d'un agent à l'autre 88

CONCLUSION 93

oOo

INTRODUCTION

Les maladies du tractus respiratoire sont, dans l'ensemble des maladies contagieuses de l'homme, de loin les plus fréquentes.

Les études des services de santé des U.S.A. en I960-6I (75) relèvent 1,1 affection respiratoire aiguë par habitant et par an, ayant entraîné une moyenne de 3,5 jours d'arrêt de travail par habitant dans l'année. Encore R.J. HUEBNER (75) pense qu'il s'agit là d'une estimation minima : la majorité des infections étant banales et n'entraînant pas de consultation médicale. C'est ainsi que DINGLE, BADGER et Coll. par une étude de 60 familles en I953 (146) arrivent à une moyenne de 6,2 maladies respiratoires banales par personne et par an ; les enfants de moins de 3 ans étant beaucoup plus touchés que les sujets de plus de 3 ans.

Or, selon EVANS (49), à l'heure actuelle, moins de 10 % seulement de ces affections sontd'origine bactérienne : il est donc possible d'admettre que la grande majorité est d'origine virale.

En effet, si en I953, C.H. STUART-HARRIS (145) dans son livre : "Influenza and other virus infections of the respiratory tract" soulignait que la majorité des agents des maladies respiratoires humaines restait à découvrir, depuis, de très nombreuses recherches ont été consacrées à ces agents et à l'heure actuelle, c'est plus d'une centaine de virus différents qui sont connus comme susceptibles de contribuer au déclenchement des maladies respiratoires.

A tel point que, en 1962, le même auteur, dans une vue d'ensemble : "The viruses of human diseases" (I46) notait le changement de la situation, le complexe et imprévisible comportement d'un tel nombre de virus et en arrivait à conclure qu'il était peut-être heureux qu'une maladie distincte ne corresponde pas à chacun de ces si nombreux différents virus.

Cette fréquence des maladies respiratoires non bactériennes en particulier chez l'enfant, le fait que nous avons pu bénéficier, lors des épidémies hivernales récentes, de l'étude clinique des cas hospitalisés dans le service de pédiatrie de l'American Memorial Hospital (C.H.U. de REIMS) et de l'étude biologique faite au Laboratoire de Microbiologie de ce service, nous a incité à essayer d'apporter une modeste contribution à l'étude de ces affections et à l'étude de leur diagnostic de laboratoire. Si, du point de vue étiologique, la plupart des maladies virales, en particulier chez l'enfant, sont susceptibles de s'accompagner au cours de leur évolution d'un syndrome respiratoire, nous limiterons notre étude aux infections à virus qui présentent un tropisme, sinon exclusif, du moins électif pour le tractus respiratoire.

C'est ainsi que nous éliminerons : les agents

- des fièvres éruptives : rougeole
  rubéole
  varicelle
- des oreillons
- de la maladie herpétique
- de la mononucléose infectieuse
- de l'hépatite épidémique
- de la chorioméningite lymphocytaire à virus d'ARMSTRONG
- de la poliomyélite
- de la lymphocytose aiguë épidémique de Carl SMITH.

Nous retiendrons donc dans le cadre de notre étude les affections dues

- aux myxovirus Influenzae
- aux myxovirus Para-Influenzae
- aux virus respiratoire syncitial
- aux Adénovirus
- aux Entérovirus respiratoires : . Coxsackies
  . ECHO
- aux Rhinovirus
- aux Réovirus

Nous étendrons notre étude aux agents que l'on a pu appeler les "virus basophiles" (VAN ROOYEN) (141) c'est-à-dire :

- les Myagawanelles de l'Ornithose et de la Psittacose
- Coxiella Burnetti : agent de la fièvre Q

Enfin nous étudierons l'agent d'EATON ou Mycoplasma Pneumoniae qui semble être fréquemment l'agent de pneumopathies primitives non bactériennes.

Après une brève étude théorique des principaux caractères biophysiques, biochimiques, biologiques et antigéniques des agents étiologiques sus-cités, nous envisagerons les différentes méthodes et techniques pratiquées au laboratoire de microbiologie de l'A.M.H. et qui sont susceptibles d'être mises en oeuvre pour le diagnostic étiologique de ces maladies en dehors d'un laboratoire de recherche virologgique. Ceci nous conduira à essayer d'établir un schéma pratique général des recherches et examens à entreprendre.

Nous étudierons alors les travaux effectués tant sur le plan clinique que biologique par différents auteurs, avant de rendre compte du travail effectué au C.H.U. de REIMS. Nous essayerons à ce stade de notre étude de voir s'il est possible d'envisager une corrélation entre l'agent étiologique découvert par le laboratoire et le syndrome clinique constaté par le clinicien.

Enfin, en conclusion, nous envisagerons l'intérêt épidémiologique que présente l'étude de laboratoire avec, pour l'avenir, l'intérêt d'éventuelles vaccinations.

CHAPITRE I

LES AGENTS RESPONSABLES

I - LES MYXO-VIRUS

Sous le nom de MYXO-VIRUS, étaient désignés les virus à R.N.A., à symétrie hélicoïdale présentant une affinité pour les mucoprotéines, et l'on distinguait, sur la base du diamètre de l'hélice de la nucléocapside, les ORTHO-myxovirus et les PARAmyxovirus.

Actuellement, d'après les propositions récentes du "PROVISIONNAL COMMITTEE FOR NOMENCLATURE OF VIRUSES" (P.C.N.V.) (123),

on distingue dans la classe des RIBOVIRA - RIBOHELICA

l'ordre des SAGOVIRALES (1) qui nous intéresse ici et qui comprend :

1 - la famille des MYXOVIRIDAE où le genre myxovirus groupe les myxovirus Influenzae agents de la grippe (diamètre de l'hélice : 90 Angströms)

2 - la famille des PARAMYXOVIRIDAE (diamètre de l'hélice : I80 Angströms) groupant :

a - le genre PARAMYXOVIRUS (virus Para-Influenzae)

b - le genre BRONCHOVIRUS SYNCYTIALIS (virus respiratoire Syncytial).

Ces différents agents étant ainsi "situés", nous allons maintenant envisager leurs caractères principaux.

---

(1) SAGO du latin sagus : saie (car ce sont des virus avec enveloppe.)

A - LES VIRUS GRIPPAUX : MYXOVIRUS INFLUENZAE HOMINIS

(17-18-72-77-105-149)

L'histoire du virus grippal commence en 1918 où DUJARRIC de la RIVIERE d'une part sur lui-même, et NICOLLE et LEBAILLY d'autre part sur des volontaires et sur le singe, réussirent la transmission de la grippe par l'injection de filtrats d'expectorations.

La découverte du furet, animal réactif de choix , par SMITH, ANDREWES et LAIDLAW en 1933 ; la mise au point de la culture du virus sur membrane chorioallantoïdienne d'oeuf de poule embryonné, en 1936 par BURNET ont permis les très nombreuses études ultérieures éclairant nos connaissances actuelles.

Propriétés biophysiques et biochimiques.

En dehors des formes filamenteuses comportant une partie "bulbeuse" à une des extrémités, qui ont été décrites par MOSLEY et WYCKOFF (17-18-72), le virion a dans la majorité des cas une forme sphérique dont le diamètre est de 80 à 120 mμ.

Ce virion est composé d'un nucléoïde central plus opaque aux électrons, entouré d'une enveloppe bien définie hérissée de spicules.

Le nucléoïde résulte du pelotonnement d'une double spirale à périodicité régulière, composée du R.N.A. intimement lié à la protéine virale spécifique, c'est-à-dire , formé de la nucléocapside. Cette spirale déroulée est longue d'environ 800 mμ et a un diamètre constant de 90 Angströms.

L'enveloppe externe a une épaisseur de 100 à 150 Angströms, riche en lipides elle semble dériver en grande partie de la membrane de la cellule infectée.

Enfin les spicules, traversant l'enveloppe, parties intégrantes du virus, sont longs d'environ 9 mμ et distants de centre à centre d'environ 8 m Ces spicules sont le support de l'hémagglutinine du virus.

Le virus est assez stable : il se conserve une semaine à + 4°C, et très bien à 0° C et -20° C. Il est détruit en quelques minutes à 56° et inactivé par les ultra-violets et par l'éther à 20 % .

Propriétés biologiques

Il cultive facilement sur membrane chorio-allantoïdienne d'oeuf embryonné sans provoquer de lésion importante à l 'embryon de poulet. L'apparition de virions complets ne se fait qu'au sortir de la cellule infectée: jamais aucune particule virale n'est visible à l'intérieur même de la cellule.

Sur les cellules infectées les techniques d'immuno-fluorescence ont permis de montrer que l'antigène soluble nucléocapsidique était répliqué dans le noyau de la cellule, alors que l'apparition de fluorescence avec anticorps antiviral était cytoplasmique.

Enfin, la culture du virus grippal a permis de mettre en évidence un phénomène important : si l'injection de faibles doses de virus à l'oeuf permet d'obtenir des virus habituels, "standards" possédant un pouvoir infectieux 10^6 fois supérieur au pouvoir hémagglutinant ; l'injection au contraire de fortes doses fournit une culture à faible pouvoir infectieux, mais possédant un pouvoir hémagglutinant normal. Ceci est dû à l'apparition de virus "incomplets", dépourvus de nucléocapside (VON MAGNUS).

Le virus grippal cultive sur cellules de primo-explantation humaines et en rein de singe, en ne donnant qu'un effet cytopathogène discret, difficile à voir : les cellules s'arrondissent et deviennent un peu plus basophiles. Il est donc nécessaire d'utiliser le phénomène d'hémadsorption pour le mettre en évidence en cultures cellulaires de façon rapide.

En effet le virus grippal a été le premier chez qui a été découvert (HIRST 1941) le pouvoir d'agglutiner des hématies (de cobaye ou de poulet).

Cette réaction se fait en trois stades :

- adsorption du virus à la surface des hématies
- agglutination des "complexes" virus-hématies
- dissociation spontanée du virus d'après les hématies qui n'a lieu qu'à 37° C.

Après cette élution, le virus n'est pas modifié : remis en présence de nouvelles hématies, il va provoquer à nouveau leur hémagglutination. Par contre, les hématies qui ont été une première fois combinées au virus, puis éluées, ne peuvent plus être agglutinées une seconde fois. La réaction est de nature enzymatique : une mucoprotéine substrat, "récepteur" pour le virus est présente sur la surface des hématies et est réduite par l'enzyme viral qui est une neuraminidase.

Sur le plan antigènique, on distingue :

1 - les antigènes fixant le complément qui sont de deux types :

a - l'antigène soluble (Ag. S.) obtenu par traitement à l'éther, semblant être constitué par des fragments de l'hélice nucléocapsidique, d'environ 60 m μ de long sur 10 m μ de diamètre. Cet antigène est responsable de la formation d'anticorps qui sont spécifiques de Type, mais qui ne peuvent mettre en évidence de différences antigéniques entre différentes souches d'un même type.

b - l'antigène Viral (Ag. V.) indissociable de la particule virale elle-même et qui est responsable de la formation d'Anticorps spécifiques de souches à l'intérieur d'un même type.

2 - Cet antigène viral est également responsable de la formation d'anticorps neutralisants spécifiques de souches.

3 - L'hémagglutinine virale qui a pu être obtenue par traitement à l'éther sous forme de particules sphériques d'environ 38 mμ de diamètre, formées de protéines et ne comportant pas d'acide nucléique.

Cet antigène est responsable de la formation d'anticorps inhibant l'hémagglutination, spécifiques de souches.

Les réactions d'inhibition de l'hémagglutination pratiquées au laboratoire ne sont que la recherche de ces anticorps après élimination des inhibiteurs sériques non spécifiques. Ces inhibiteurs sont en effet des mucoprotéines normales du sérum sur lesquelles l'hémagglutinine virale agit, devenant ainsi incapable ensuite d'agglutiner les hématies. Leur élimination doit donc être faite soit par le R.D.E. (Receptor - Destroying - Enzyme de BURNET - 1947), soit par le périodate de potassium ou le Kaolin, avant de commencer la recherche sérolcgique virale.

Ces différents antigènes ont permis de distinguer les différents types de virus grippaux A, B et C.

Mais si le type C, le moins fréquent, semble stable : on en connait que le prototype initial : la souche 1233.

Si le type B semble assez stable : on en connait que deux sous-types B et B_1.

Le type A par contre est, lui, capable de variations antigéniques certaines, avec même recombinaisons (BURNET).

- un Ier groupe : type A dont les souches prototypes sont W.S. et P.R.8.
- un 2e groupe : sous-type A_1 apparu de 1946 à 1956 avec différentes souches se modifiant peu à peu
- un 3e groupe : sous-type A_2 apparu lors de la pandémie de 1957 et dont les modifications des caractères antigéniques sont importantes par rapport au type A initial.
  Les prototypes sont pour ce sous-type les souches Singapour 1/57 et Japonaise 57.

Ces deux derniers prototypes restent valables jusqu'à ce jour semble-t-il, mais jusqu'à ce que de nouvelles modifications antigéniques amènent à augmenter le nombre de ces groupements. A moins que, la prochaine variation antigénique ne fasse réapparaître une souche antérieurement connue et dont la propagation sera redevenue possible par absence d'anticorps neutralisants spécifiques, en raison de l'extinction de la majorité des porteurs de ces anticorps. Un exemple semble nous en être donné par le sous-groupe A_2 de I957 qui paraît antigéniquement proche des souches responsables de la pandémie de I889-90.

B - LES VIRUS PARA-INFLUENZAE

(19-20-21-72 -77-83-140-158).

Premier genre de la famille des Paramyxoviridae , ces virus forment un groupe très important dans l'étiologie des maladies respiratoires. Le premier type fut découvert par KUROYA, ISHIDA et Coll. en 1953.

Quatre types sérologiques distincts ont été découverts chez l'homme, plus ou moins proches, mais cependant antigéniquement séparables de souches de virus para-influenzae de différents animaux.

Nous empruntons à CHANOCK et Coll. (19) le tableau ci-après donnant la désignation de ces quatre types.

Types antigéniques et Hôtes naturels des virus Para-Influenzae

TYPE	Souches infectieuses pour l'homme (synonymes)	Souches voisines infectant des hôtes différents	
		Souches (synonymes)	HOTES
1	Hémadsorption type 2 (HA2) CHANOCK 1954	Sendaï ou H.V.J. (Hémagglutining virus of Japan) Kuroya (1953	Souris Porc
2	Croup. Associated (CA) CHANOCK 1956	Simian Virus (SVS	Singe
	BEALE MAC LEOD 1958	Simian Virus 41 (SV41)	Singe
3	Hémadsorption type 1 (HA1) CHANOCK-COOK 1957 EA 102 CHANY 1958	Shipping Fever (SFA)	Bovidés
4	M 25	Aucune connue	

Propriétés biophysiques et biochimiques

Elles sont très voisines de celles des virus influenzae. Cependant le diamètre des virions est supérieur : de I50 à 250 m μ. De même le diamètre de la double hélice nucléocapsidique : I80 Angströms est exactement le double du diamètre de celle de la grippe.

Rapidement inactivés par l'éther à 20 %, ils sont également plus rapidement inactivés que les virus grippaux à des températures de 20 à 37° C.

Propriétés biologiques

1 - Hémagglutination

La réaction des virus para-influenzae avec les érythrocytes ressemble à celle des virus influenzae dans ses aspects fondamentaux.

Cependant, la destruction des "récepteurs" érythrocytaires par les virus para-influenzae est plus difficile à démontrer pour certains types du fait de l'action simultanée d'une hémolysine.

Le type 1 a un pouvoir hémolytique plus marqué pour les hématies de poulet alors que le Type 3 hémolyse mieux les hématies de cobaye (Cette activité hémolytique peut être inhibée par des sérums spécifiques humains ou animaux).

Les quatre types agglutinent les hématies de poulet, de cobaye et humaines de groupe O.

Pour les types I, 2 et 3 l'agglutination des hématies de cobaye se produit à + 4° C, mais à des titres plus élevés à 37° C. Le type 4 n'agglutine que peu les hématies de cobaye. Par contre, les types I, 2 et 3 agglutinent les hématies de poulet à des titres beaucoup plus élevés à + 4° C.

2 - Cultures cellulaires :

Les quatre cultivent et produisent des inclusions cytoplasmiques éosinophiles en cellules de rein de singe (19).

Le type 2 est le seul qui puisse être reconnu facilement à l'isolement, par son effet cytopathogène : il entraîne la formation de syncytiums sombres, irréguliers avec de nombreux noyaux.

Les types 2 et 3 produisent l'apparition de syncytiums par passage en culture cellulaire de lignées continues humaines (K.B.,HeLa, Hep 2), mais les types 1, 3 et 4 donnent rarement une lésion cellulaire suffisante, à l'isolement pour être reconnus facilement.

En culture cellulaire donc, le phénomène fondamental pour la mise en évidence des types 1, 3 et 4 est l'hémadsorption par les cellules infectées des hématies de cobaye.

Les virus para-influenzae cultivent également en cellules diploïdes humaines (fibroblastes) et en lignées continues. Mais les meilleurs rendements sont obtenus en cellules de rein de singe ou de rein humain pour tous les types, et en cellules amniotiques pour le type 2.

La mise en évidence des virus para-influenzae est plus précoce pour les types I et 3, les types 2 et 4 demandant en général une incubation plus longue.

Sur le plan antigénique : les virus para-influenzae sont stables en ce sens qu'on ne leur connait pas de variations.

A côté de l'hémolysine que nous avons signalée et qui provoque la formation d'anticorps spécifiques

de l'hémagglutinine dont nous avons également parlé et qui induit la formation d'anticorps inhibant l'hémagglutination et d'anticorps inhibant l'hémadsorption.

L'antigène viral provoque la formation d'anticorps neutralisants

Et l'antigène soluble nucléocapsidique induit l'appariti on d'anticorps fixant le complément.

Les quatre types de virus para-influenzae ont des antigènes communs sans que l'on puisse parler d'antigène de groupe véritable.

En effet par infections spéficiques chez le cobaye, on peut facilement, par fixation du complément, inhibition de l'hémagglutination ou neutralisation en culture cellulaire, distinguer le type viral qui a servi à l'infection expérimentale:

Le titre des sérums homologues donnant des réactions de fixation du complément par exemple variant de I/80 à I/2500e, alors que les titres des sérums hétérologues ne sont que de I/I0.e (CHANOCK et PARROTT).

Mais chez l'homme, les réponses sérologiques sont habituellement moins spécifiques : ceci à cause des infections antérieures fréquentes par d'autres types de virus para-influenzae. Il est en effet exceptionnel de trouver des sujets de plus de 5 ans sans anticorps pour au moins un des types de virus para-influenzae. De même il est nécessaire de signaler les rapports antigéniques existant entre le type 2 et le virus des oreillons.

Ceci, malheureusement , accroît donc la difficulté du diagnostic sérologique.

C - LE VIRUS RESPIRATOIRE SYNCYTIAL (V.R.S.)

(3-7-9-22-35-50-56-67-77-8I-89-104-I40)

Découvert en I956 pour MORRIS et Coll. (104) chez des chimpanzés atteints de coryza et dénommé tout d'abord virus C.C.A. (Chimpanzee Coryza Agent) le virus fut retrouvé chez 2 enfants l'année suivante par CHANOCK et Coll. (22) et rebaptisé alors "Respiratory Syncytial Virus" ou R.S.V. ou V.R.S. en français.

Nos connaissance actuelles sur les propriétés biologiques et physiques de ce virus tendent à le rapprocher des "myxovirus" et la classification du "Provisional committee for Nomenclature of Viruses" (123) l'y intègre comme deuxième genre de la famille des paramyxoviridae sous le nom scientifique de" Bronchovirus Syncytialis".

Propriétés biophysiques et biochimiques

Son diamètre est de 90 à 120 m μ. C'est un virus à RNA : insensible à l'action de la 5 fluoro-désoxy-uridine. Sa forme est sphérique, il est entouré d'une enveloppe hérissée de spicules. Il est sensible à l'éther à 20 %.

On n'a cependant pas pu jusqu'ici mettre en évidence de constituant interne à structure hélicoïdale.

Il est extrêmement labile à pH 3, et est extrêmement sensible au froid et à la congélation.

Propriétés biologiques

Il cultive en donnant un effet cytopathogène sur cellules humaines de primo-explantation (cellules rénales et fibroblastes en particulier), sur lignées continues, et en cellules de rein de singe.

Son effet cytopathogène dominant en culture cellulaire est la formation des cellules géantes et de syncytium : l'importance et la rapidité d'apparition

de cet effet cytopathogène dépend non seulement des cellules utilisées, mais aussi de la composition du milieu nutritionnel (8I).

La réplication du virus se fait dans le cytoplasme des cellules infectées avec apparition d'inclusions cytoplasmiques éosinophiles.

Il ne provoque pas de symptômes décelables chez les animaux courants de laboratoire, ni dans l'oeuf embryonné par les différentes voies classiques d'inoculation.

Il ne produit aucune hémagglutination sur les différentes hématies couramment utilisées et ne donne pas de phénomène d'hémadsorption.

Du point de vue antigénique :

Il apparaît parfaitement homogène à chaque isolement décrit : un seul sérotype en est connu avec tout au plus quelques légères variations en séro-neutralisation.

L'antigène soluble est séparable de la particule virale et de plus petite taille qu'elle. Il provoque la formation d'anticorps fixant le complément, commun à toutes les souches isolées et permet la réaction sérologique la plus fréquemment utilisée pour son diagnostic.

L'antigène viral , lui, est responsable de la formation d'anticorps neutralisants. Si aucune modification de structure antigénique n'a pu être mise en évidence quelles que soient les souches isolées par des sérums humains spontanément infectés, elles sont par contre décelées grâce aux anticorps neutralisants d'immuns-sérums préparés chez le furet et le lapin. Il est donc possible que les antigènes de surface présentent des variations comme les hémagglutinines grippales (SAMAILLE) (13).

Quant à la sensibilité des réactions, HAMPARIAN et Coll. (67) ont montré que les réactions de fixation du complément étaient pour ce virus équivalentes aux séro-neutralisations, mais que, en accord avec les études de CHANOCK et Coll. (23), les techniques sérologiques étaient moins sensibles chez le très jeune enfant spécialement, que l'isolement du virus : ils retrouvent ainsi environ 68 cas diagnostiqués sérologiquement pour 100 isolements du virus.

II - LES ADENO-VIRUS

(48-49-60-92-II6-II7-II8-II9-I34-I42)

Les Adénovirus constituent un large groupe d'agents qui ont été isolés aussi bien chez l'homme que chez les animaux puisqu'on en connait actuellement 46 séro-types : 30 humains et I6 animaux.

En I953 ROWE et HUEBNER, par mise en culture de fragments d'amygdale prélevée chirurgicalement, mettent en évidence la première souche.

En I954 HILLEMAN et WERNER isolent la 2e souche, qu'ils nomment R.I.67, chez un militaire présentant une affection respiratoire aiguë.

En I956 ENDERS (48) propose de nommer le nouveau groupe viral "Adénovirus" pour rappeler l'origine du Ier isolement et le tropisme particulier de ces virus, en remplacement du terme de virus A.P.C. ("Adéno-Pharyngo-Conjunctival") primitivement proposé.

Propriétés biophysiques et biochimiques

C'est un virus à D N A .

De forme icosahédrique, les virions ont un diamètre de 60 à 85 m μ

De symétrie cubique 5-3-2, il a un nombre de capsomères que l'on admet généralement de 252.

Il n'a pas d'enveloppe : virus nu, il est donc résistant à l'éther à 20 %.

Il est vite inactivé à 56°C mais il est stable à basse température : conservant indéfiniment son pouvoir infectieux à -20°.

Il est stable enfin dans une très large zone de pH.

Propriétés biologiques .

Il cultive facilement en cellules épithéliales humaines de primo-explantation : cellules amniotiques ou thyroïdiennes, ou en lignée continue : HeLa, K.B., Hep. 2, de même qu'en culture de rein de singe.

Il cultive beaucoup moins bien en fibroblastes.

Son effet cytopathogène est caractéristique : assez lent : 3 à 5 jours, voire même 28 jours, il est nucléaire, respectant le nucléole. Il consiste en :

- tout d'abord, l'apparition de granulations éosinophiles : stade auquel aucun acide nucléique n'est décelable,

- puis, un peu plus tard, l'apparition de granulations basophiles, FEULGEN positives, contenant du DNA.

A ce stade, un grand nombre de particules virales complètes sont formées, pouvant provoquer l'apparition d'une structure paracristalloïde dans cette inclusion nucléaire.

La réplication et la maturation du virus est donc entièrement nucléaire.

Il ne cultive pas en oeuf embryonné.

Sur les animaux de laboratoire, si on n'a pendant longtemps connu aucun animal réceptif, il a été montré récemment (TRENTIN) que les Adénovirus humains types 12 - 18 et 7 étaient oncogènes pour le Hamster nouveau-né.

Sur le plan antigénique

A la suite des travaux de PEREIRA (117-118) on distingue 3 fractions antigéniques :

1 - Fraction B : qui est protéique, non associée à la particule virale c'est le C.D.F. (cell-detaching factor) de PEREIRA (119) qui a un effet cytopathogène particulier et précoce : il détache les cellules du verre lorsque le virus est injecté dans la culture à titre élevé.

2 - Fraction A : Nucléoprotéique qui correspondrait à l'antigène soluble et qui est responsable de la formation d'anticorps spécifiques du groupe des adéno-virus, communs à tous les séro-types, et décelables en fixation du complément.

Cette fraction antigénique A est trouvée dans le liquide surnageant et est formée de particules plus petites que le virion : de l'ordre de 40 mμ de diamètre.

3 - Fraction C : qui est une autre nucléoprotéine provoquant la formation d'anticorps:

- décelables pour certains types en fixation du complément
- pour tous les types par séro-neutralisation.

Ces anticorps sont spécifiques de Type, sauf pour les Adéno-virus I5 et 25 pour lesquels existent des réactions croisées.

Enfin existe pour les Adéno-virus, sauf pour les types 12 et 18, une hémagglutinine qui provoque la formation d'anticorps inhibant l'hémagglutination que l'on veut tester selon les types.

- soit sur hématies de rat
- soit sur hématies de Macacus Rhesus.

Ceci a permis à ROSEN (130) de proposer en I960 une classification en sous-groupes permettant un premier dégrossissage diagnostic.

Du point de vue cinétique on note une différence pour ces différents anticorps :

Les anticorps fixant le Complément apparaissant en règle dès la fin de la première semaine après le début de l'infection, augmentent pour atteindre leur taux maximum vers le 15-20e jour, puis décroissent progres-

sivement pour disparaitre ou atteindre des taux très faibles en I0 semaines à 3 mois environ.

Les anticorps inhibant l'hémagglutination et les anticorps neutralisants ont, eux, une cinétique à peu près parallèle, apparaissant un peu plus tard, ils atteignent leur maximum vers le 60e jour et persistent ensuite beaucoup plus longtemps quelquefois des années.

Sous-groupes	Séro-types Adéno	Hémagglutination	
		Rhésus	Rat
1	3-7-11-14-16-20-21-25-28	+	0
2	8-10-13-15-17-19-22-24-26-27	+ faible ou 0	+
3	1-2-4-6	0	+ faible
4	12-18	0	0

Classification de ROSEN d'après l'hémagglutination.

III - LES PICORNA-VIRUS HUMAINS RESPIRATOIRES

On classe sous cette dénomination, à la suite des travaux de MELNICK, DALLDORF, SABIN et Coll. en 1963, toute une série de virus connus à l'origine sous le nom d'Entéro-virus.

Ce groupe, comprenant au départ un petit nombre d'agents humains s'est étendu à une très vaste collection de virus aux hôtes variés.

Nous rappellerons tout d'abord la classification actuelle de ces différents agents, puis nous décrirons rapidement les caractères communs à tout le groupe pour signaler ensuite les caractéristiques propres à chaque agent.

A - CLASSIFICATION (PLUMMER) (121)

Famille des NAPOVIRIDAE

1 - Picorna-virus résistants à pH acide :

Entéro-virus humains

a - genre Polio-virus

b - genre ECHO-virus

c - genre Coxsackies virus

Sous-famille des PICORNAVIRINAE (PICORNAVIRUS)

2 - Picornavirus sensibles à pH acide :

a - Rhino-virus humains

b - Rhino-virus animaux

B - Caractères généraux des Picorna-virus

Les mesures faites sur de très nombreuses souches ont amené à estimer le diamètre de la particule virale de I5 à 30 m/((27 m/(pour la Polio-virus 1 par exemple).

La particule virale est icosahédrique recouverte de capsomères régulièrement répartis. Le nombre de ces capsomères est difficile à évaluer du fait de la très petite taille. Généralement admis au nombre de 60 il y a quelques années, on tend à l'heure actuelle à penser qu'il y en a 32 seulement MAYOR - I954).

Le centre de la particule est formé d'un nucléoïde comprenant environ 25 % du poids de la particule et qui est du RNA.

Ce sont des virus nus, sans enveloppe, ni constituant lipidique et qui sont donc résistants à l'éther à 20 %.

Ce sont en général des virus assez résistants, se conservant dans les fèces, mais détruits en 30' à 56°C.

D'une manière générale la plupart de Picorna-virus cultivent en cultures cellulaires : les plus fréquemment utilisés étant les lignées humaines continues (Hela ou KB) ou les cellules de rein de singe. Cependant certains types ont un spectre beaucoup plus large de cellules sensibles et à l'opposé d'autres cultivent mal en cultures cellulaires.

L'effet cytopathogène est semblable pour la plupart des entérovirus humains, et il tend à être considéré comme typique de la plupart des Picorna-virus. (PLUMMER) (121).

Il consiste en un arrondissement des cellules qui se décollent ensuite du verre et flottent dans le milieu, formant ainsi des plages de lyse.

Enfin, il a été montré que très souvent apparaissait dans le cytoplasme une masse éosinophile qui tendait à repousser le noyau sur un bord de la cellule (BARSKI - I962).

La réplication du virus est intra-cytoplasmique, le noyau n'ayant aucun rôle, puisque CROCKER et Coll. ont réussi en I964 à cultiver un Polio-virus sur cellules énucléées, conservant le cytoplasme seul.

C - Caractères particuliers des différents Picornavirus respiratoires

1 - Les ECHO-VIRUS

(34 - 36 - 58 - 77 - 80 - 101- 107 - 129 - 140)

Découverts à la suite des travaux d'ENDERS (1949) sur la culture des polio-virus, ce groupe de virus fut baptisé ainsi par DURAN-REYNALS en I955. Le sigle ECHO signifiant : "Enteric-Cytopathogenic -Human - Orphan viruses".

Caractérisés par le fait qu'ils n'ont aucun pouvoir pathogène chez le singe : ce qui les différencie des Polio-virus, et chez le souriceau nouveau-né: ce qui les distingue des Coxsackies ; ils ne présentaient aucune parenté antigénique avec les Polio-virus.

Ils cultivent tous facilement sur cellules de rein de singe, sauf l'ECHO 21 qui ne pousse que sur cellules humaines.

Sur la base des tests de séro-neutralisation, ont été isolés les différents types numérotés de 1 à 32.

Mais à l'heure actuelle ont été exclus de ce groupe les types primitivement dénommés ECHO 8, 9, I0 et 28 :

- L'ECHO 8 est considéré identique antigéniquement à l'ECHO 1 et est classé maintenant sous ce nom,

- l'ECHO 9 qui s'est révélé pathogène pour le souriceau nouveau-né est aujourd'hui dénommé Coxsackie A 23.

- l'ECHO 10 exclu par SABIN (136) est le Réovirus I

- enfin l'ECHO 28 qui s'est révélé être sensible à pH acide de 3 est aujourd'hui classé dans la famille des Rhino-virus.

Ce sont donc 28 sérotypes de virus ECHO qui sont dénombrés à l'heure actuelle.

Sur le plan antigénique on distingue :

- l'antigène provoquant la formation d'anticorps neutralisants qui sont spécifiques de type,

- l'antigène provoquant la formation d'anticorps fixant le complément qui n'est pas un antigène de groupe, mais provoque l'apparition de réactions croisées entre différents types.

- enfin une hémagglutinine de nature chimique inconnue existe chez certains types (ECHO 3, 6, 7, II, I2, I3, I9, 21, 29), pour les hématies humaines du groupe O, provoquant l'apparition d'anticorps inhibant l'hémagglutination.

Mais une remarque s'impose : c'est l'apparition chez l'homme lors d'infections à ECHO virus d'anticorps donnant des réactions croisées avec certains virus Coxsackies et même Polio à des titres élevés, rendant le diagnostic sérologique difficile.

2 - LES VIRUS COXSACKIES

(16-58-77-80-I0I-III-115-140)

Ces virus ont été découverts en I948 par DALLDORF et SICKLES chez deux enfants d'un village de l'état de New-York qui leur a donné son nom.

La caractéristique essentielle de ces virus est leur pathogénicité pour le souriceau nouveau-né. On en distingue deux groupes :

- A (types 1 à 24)
- et B (types 1 à 6)

sur la base du type d'infection provoqué au souriceau.

Les virus du groupe A provoquent une dégénérescence hyaline des muscles striés aboutissant à une paralysie flasque. Il n'y a pas d'atteinte des autres organes et en particulier du myocarde.

Les virus du groupe B provoquent l'apparition d'une paralysie spasmodique avec convulsions. Les lésions sur les muscles striés sont limitées, mais atteignent souvent le myocarde. La lésion prédominante est le plus souvent au niveau de la graisse brune interscapulaire. Enfin dans 85 % des cas on observe de larges zones de liquéfaction cérébrale.

Par ailleurs les virus Coxsackies B se cultivent facilement en culture de rein de singe, alors que les virus du groupe A poussent plus difficilement en cultures cellulaires. Cependant le Type A 9 cultive à l'isolement en rein de singe , le type A 21 (ancien Coë-virus) peut être isolé sur Hela ou Hep 2 et de nombreux autres types ont pu être adaptés secondairement en cellules amniotiques humaines.

Sur le plan antigénique on distingue :

- les antigènes provoquant la formation d'anticorps neutralisants qui sont spécifiques de type.

- ceux provoquant la formation d'anticorps fixant le complément. Cet antigène est obtenu à partir de broyats de carcasses de souriceaux infectés.

Ils ont une spécificité moins rigoureuse, aboutissant à la formation de réactions croisées , mais on ne connait pas d'antigène de groupe véritable.

Enfin on a découvert récemment que certains types de Coxsackies avaient une hémagglutinine, se manifestant à 37°C : ce sont les Coxsackies B1, B3, B5 et A 20, A 21 , A 24.

3 - LES RHINOVIRUS HUMAINS

(64-68-69-85-87-121-147-148)

Ces virus ont été appelés de noms divers au fur et à mesure de leur découverte. La première tentative de classification et de groupement est due à HAMPARIAN et HILLEMAN (69) qui proposèrent de les appeler virus E.R.C. (ECHO 28 - Rhinovirus - Coryzavirus).

Depuis 1963 le nom de Rhinovirus (MELNICK et Coll.) (TYRRELL et CHANOCK) a été accepté comme nom officiel de ce sous-groupe des Picornavirus.

On en distingue deux catégories :

- les souches "M" qui cultivent en cellules de rein de singe et en cellules humaines.

- les souches "H" qui cultivent uniquement en cellules humaines : cellules de rein humain et fibroblastes de poumons humains.

Certaines de ces souches ont pu être secondairement adaptées aux lignées cellulaires continues.

Si leur effet cytopathogène est identique à celui des entéro-virus, le groupe des rhinovirus s'en distingue par :

- le fait qu'ils sont retrouvés dans les exsudats rhino-pharyngés mais jamais dans les selles,

- leur sensibilité à pH acide : ils sont rapidement inactivés à pH 3, alors que les entéro-virus y sont stables.

- leur culture plus facile à 33°C à pH initial de 7 dans un milieu faiblement concentré en bicarbonates.

- leur résistance, en général, à 50° pendant 30 minutes, alors que les entéro-virus sont, dans ces conditions, inactivés (résistance encore accrue par un milieu molaire en Mg C12 à cette température).

Sur les bases des tests de séro-neutralisation, plus de 30 sérotypes ont été découverts depuis la mise en évidence de la première souche décrite en I956 par PELTON et PRICE sous le nom de ECHO 28.

A l'heure actuelle, on ne connait encore que l'antigène viral responsable de l'apparition d'anticorps neutralisants dans plus de 60 % des cas d'infections expérimentales. Ces anticorps , suivant les souches, peuvent diminuer progressivement, ou persister à des taux élevés pendant des années (TAYLOR, ROBINSON) (I48).

IV - LES REO-VIRUS

(16-40-4I-91-131-151-155).

Découverts en I954 par SABIN et RAMOS - ALVAREZ et initialement décrits sous le nom d'ECHO 10, une meilleure connaissance de leurs propriétés conduit SABIN lui-même, en I959, (136) à les exclure non seulement du groupe des ECHO virus, mais même des Entéro-virus pour les dénommer REO-VIRUS (Respiratory-Enteric-Orphan viruses).

Propriétés biophysiques et biochimiques

Virus à RNA, nu, sans enveloppe, à symétrie cubique 5-3-2, dont le diamètre est de 595 Angströms $\pm$ 25 A (151-155).

La capside est constituée de 92 capsomères.

Ils sont résistants à l'éther, mais thermolabiles , ils sont détruits en une minute environ à 56° C.

Propriétés biologiques

Ils cultivent dans de très nombreux systèmes cellulaires :

- lignées continues : Hela, KB, Hep 2
- Cellules de primo -explantation : cellules de rein de singe, cellules thyroïdiennes humaines.
- cellules diploïdes humaines : fibroblastes.

Leur effet cytopathogène (40) est caractéristique :

- arrondissement des cellules qui s'écartent les unes des autres,

- apparition précoce (6-12e heure) d'un fin réseau en mailles de filet dans le cytoplasme, visible après hématoxyline-éosine.

- Puis apparition de mottes aboutissant vers la 48e heure à de grosses mottes ou à un croissant coiffant le noyau ; colorés en rouge par l'hémalun-éosine ou en bleu par le May-Grunwald-Giemsa.

- quant au noyau lui-même, il n'est jamais modifié, la réplication du virus étant entièrement intra-cytoplasmique.

Caractères antigéniques

Les réo-virus possèdent un antigène fixant le complément qui est commun à toutes les souches : donc spécifiques de groupe.

et deux antigènes spécifiques de type :

- l'un fait apparaitre des anticorps neutralisants
- l'autre est une hémagglutinine (GOLFIELD - 1957) qui est inactivée par les agents spécifiques des groupements SH.

Cette hémagglutinine est active à + 4 °C sur les hématies humaines de groupe O, sur les hématies de cobaye et de mouton.

Les récepteurs globulaires sont détruits par le périodate de K, mais non par le R.D.E.

Grâce aux réactions d'inhibition de l'hémagglutination ROSEN a distingué trois sérotypes de Réo-virus :

Type I : souche type LANG
Type II : souche type D5
Type III : souche type DEARLING (SABIN)
et souche ABNEY (ROSEN)

Ce type III a une hémagglutinine active également sur les globules rouges de boeuf.

Les types I et III semblent les plus fréquemment rencontrés en clinique.

V - LES MIYAGAWANELLES RESPIRATOIRES

(39-77-106-141)

Les miyagawanelles respiratoires ou CHLAMYDOZOACES (MOSHKOWSKY), groupent les agents de l'Ornithose et de Psittacose, agents pathogènes pour l'homme ainsi que de nombreux autres types pathogènes pour différents animaux. Seuls les deux premiers nous intéressant. Ils entrent dans le cadre des "virus basophiles" (VAN ROOYEN - I963) (I4I).

A mi-chemin entre les bactéries et les Rickettsies, ce sont de gros "virus" dont le diamètre varie entre 250 et 450 m μ.

Propriétés biophysiques et biochimiques

Se présentant sous forme de particules arrondies ayant un nucléoïde central plus opaque aux électrons, entouré d'une zone périphérique claire, ils sont composés de RNA et de DNA.

Ils sont rapidement détruits par la chaleur : en I0' à 60°C, par le formol et l'éther à 20 % en 30'. La glycérine n'assure pas la conservation de leur pouvoir pathogène.

Leur conservation nécessite des températures de -70°C, ou la lyophylisation.

Ils sont sensibles enfin à certains antibiotiques : Tétracycline, Chloramphénicol et plus légèrement à la Pénicilline et à certains sulfamides.

Propriétés biologiques

Ils ne peuvent cultiver que dans des cellules vivantes.

Ils cultivent facilement en oeuf de poule embryonné; la voie d'inoculation de choix étant le sac vitellin.

La réplication du "virus" dans la cellule infectée est intra-cytoplasmique.

Le cycle du virus se déroulerait en 48 heures.

Après une phase d'éclipse, apparaissent dans le cytoplasme des zones assez mal limitées faites de fines granulations. Ces zones sont des corpuscules initiaux qui seraient une sorte de matrice où s'élaborent les corpuscules élémentaires L.C.L. (LEVINTHAL - COLES - LILLIE - 1930) : corpuscules qui sont visibles : colorés en rouge par la méthode de MACCHIAVELLO ou en violet par le GIEMSA.

La culture est également possible en culture cellulaire de rein de singe et sur cellules humaines (thyroïde - fibroblastes) et de lignées continues. Mais les rendements sont moins bons qu'en oeuf embryonné.

La souris est l'animal de choix pour l'étude du pouvoir pathogène expérimental (BEDSON - 1930).

Sur le plan antigénique :

L'antigène fixant le complément est associé au "virus". Formé d'un composant thermolabile et d'un composant thermostable.

- le composant thermostable résiste aux enzymes protéolytiques, mais est détruit par le périodate de K. Ce serait lui qui serait responsable de la spécificité de groupe, commune à toutes les Miyagawanelles.

- le composant thermolabile est détruit par le phénol, les acides et les enzymes protéolytiques, il ne serait présent que chez peu de "virus".

Les tissus infectés contiennent un principe toxique intimement lié au "virus" qui tue rapidement la souris avant que la Miyagawanelle n'aie eu le temps de se multiplier. Ce principe toxique provoque la formation d'anticorps qui seraient spécifiques de souche, de même que les anticorps neutralisants.

Enfin existe une hémagglutinine active sur les hématies de souris, indépendante des corps élémentaires, dont on ne sait si elle est une forme incomplète ou au contraire une forme dégradée de miyagawanelle.

Sur le plan pratique, en sérologie c'est la réaction de déviation du complément qui est la plus employée, spécifique de groupe, elle se positive au 10e jour environ de la maladie, où beaucoup plus tard (20 ou 40e jour) si le malade a été traité par les antibiotiques, pour rester à des titres assez élevés pendant des mois, voire des années.

VI - COXIELLA BURNETII

(44-52-61-62-77-114)

Agent de la Fièvre Q, appelé auparavant Rickettsia Burnetii, Coxiella Burnetii est classé un peu à part dans le groupe des Rickettsies.

Dans la classification de C. PHILIP, adoptée par le BERGEY's Manual, la famille des Rickettsiacae est divisée en 3 sous-groupes :

I - sous-groupe Rickettsia (R. Prowazeki, mooseri, et Tsutsugamushi)
II - sous-groupe Dermacentroxenus (R. Rickettsi et Conori)
III - sous-groupe Coxiella (Cox. Burnetii)

Cette classification pour l'agent de la fièvre Q résulte :

- du fait de sa plus petite taille
- du fait de l'absence d'éruption cutanée au cours de l'affection qu'elle provoque
- du fait de son absence de réaction antigénique croisée avec les Protéus utilisés dans la réaction de WEIL et FELIX.
- et surtout du fait de son mode de transmission courant direct d'homme à homme par voie respiratoire, même si, comme pour les autres Rickettsies, les arthropodes jouent un rôle certain dans sa biologie.

Propriétés biophysiques et biochimiques.

Composée des 2 types d'acides nucléiques : DNA et RNA dans la proportion de 3,5 pour I, comme toutes les Rickettsies, Coxiella Burnetii

est un organisme assez polymorphe. Le plus souvent sous forme de cocci ovoïdes ou un peu lancéolés de 250 mμ sur 500 mμ il peut prendre l'aspect de courts bâtonnets ou même de diplobacilles atteignant 1 ou 1,5μ.
Les formes longues, filamenteuses existent mais sont beaucoup moins fréquentes que pour R. Prowazeki et Mooseri.

Au microscope électronique son aspect est identique à celui des autres Rickettsies, constitué d'un nucléus central dense, opaque aux électrons, contenant de l'acide mauramique comme la membrane des bactéries.

Un des caractères marquant est la grande résistance de Coxiella Burnetii : conservée très facilement à -70c, elle résiste très bien dans les déjections de tiques à la température ordinaire en atmosphère humide ; de même du sang de cobaye séché à température ordinaire se montre encore virulent au bout de 6 mois (PARKER et Coll).

L'inactivation est réalisée en quelques jours par le formol ou le phénol.

Propriétés biologiques

Comme les autres Rickettsies, elle ne cultive pas sur les milieux bactériologiques, mais uniquement dans des cellules vivantes, où elle apparaît, visible au microscope optique, après coloration de Giemsa en bleu, après coloration de MACCHIAVELLO en rouge.

La méthode de choix est la culture en sac vitellin d'oeuf embryonné à 34°C, maix Coxiella Burnetii cultive également sur la plupart des types de cellules (Hela, KB, en particulier).

De nombreux animaux sont sensibles, mais les seuls utilisés en laboratoire sont le cobaye et le souriceau de 2 à 4 semaines par voie intrapéritonéale.

Comme les autres Rickettsies elle est sensible à différents antibiotiques ; tétracyclines et chloramphénicol en particulier.

Propriétés antigéniques

Coxiella Burnetii apparait stable antigéniquement, ne donnant aucune réaction croisée avec les autres Rickettsies, ni avec les bactéries du genre Proteus OX, I9, OX 2 et OX K. La réaction de WEIL et FELIX est donc inapplicable pour cet agent.

Un antigène soluble semblant provenir de la membrane est responsable de la formation d'anticorps fixant le complément. De même d'ailleurs que les antigènes liés au corps rickettsial lui-même et qui provoquent la formation d'anticorps qui seraient plus spécifiques.

Les Rickettsies provoquent également l'apparition d'anticorps spécifiques neutralisant leur pouvoir infectieux, d'anticorps neutralisant leur toxine et d'anticorps inhibant l'Hémagglutination d'hématies par des extraits alcalins chauffés de Rickettsies purifiées.

Mais les anticorps les plus couramment utilisés et dont la recherche a été particulièrement bien standardisée pour Coxiella Burnetii (P. et M.L. GIROUD) (I942), sont les anticorps agglutinants.

L'agglutination des rickettsies, pour cette raison et à cause de sa sensibilité est la méthode de choix.

Mais il nous faut signaler que ces anticorps dans la fièvre Q peuvent n'apparaitre que tardivement parfois (4e semaine). Ils persistent en général très longtemps pendant plusieurs années.

L'immunité conférée est durable et solide.

VII - AGENT D'EATON ou MYCOPLASMA PNEUMONIAE

(4-25-26-27-65-77-86-99-139-141-156)

Découvert en I944 par EATON (45) cet agent de pneumonies atypiques primitives (P.A.P.) a été longtemps pris pour un virus. Un doute commença à naître lorsque ce même auteur montra en I950 (46) que cet agent était sensible à l'auréomycine et au chloramphénicol . Plusieurs observations ensuite, et enfin sa culture réussie sur milieu gélosé sans cellule, en I962 par CHANOCK et HAYFLICK (26) ont amené à classer l'agent d'EATON dans la famille des Mycoplasmatacae sous le nom de Mycoplasma Pneumoniae.

Cette famille des mycoplasmatacae (FREUNDT I955) groupe aujourd'hui de nombreux agents aussi bien humains qu'animaux, englobés il y a quelques années dans le groupe des P.P.L.O. (Pleuro-Pneumonia Like Organisms). Ce nom avait été donné à ces agents pour leur ressemblance avec l'agent de la Pleuropneumonie des bovidés premier type découvert par Louis PASTEUR, puis cultivé en I898 sur milieu gélosé par NOCARD et ROUX et qui est dénommé dans la classficiation actuelle : Mycoplasma Mycoïdes.

Comme tous les mycoplasma, l'agent d'EATON possède les caractères suivants :

C'est un organisme vivant qui a une très petite taille : les plus petits éléments capables de se reproduire ont une dimension de 125 à 150 m μ. Ce sont donc les plus petits organismes vivants capables d'une vie autonome, libre.

Mais , en microscopie électronique leur taille apparaît variable : de 30 m μ à 1.000 m μ . Généralement sphériques ils sont en fait très polymorphes à cause de l'absence d'une paroi rigide comme celle des bactéries.

Les mycoplasmes apparaissent en effet entourés seulement d'une fine membrane de 75 à 100 Å d'épaisseur, composée de trois couches : une couche intermédiaire transparente aux électrons et deux couches opaques. Des ribosomes et un réticulum central de matériel nucléaire sont également visibles.

Enfin la présence simultanée des deux acides nucléiques (DNA et RNA) dans la cellule mycoplasmique est démontrée.

Comme les autres mycoplasmes l'Agent d'EATON est sensible à certains antibiotiques : Tétracycline, Chloramphénicol, Streptomycine, Spiramycine, mais il est constamment insensible aux sulfamides et, en raison de son absence de paroi, à la pénicilline.

Les mycoplasmes peuvent se reproduire sur des milieux non vivants dont la première caractéristique est qu'ils doivent être très riches : à base de bouillons de viande enrichis en lipides organiques contenant en particulier du cholestérol. SMITH (139) a montré que les facteurs nécessaires à la culture des mycoplasmes étaient les acides gras saturés et non saturés et les lipides non saponifiables qu'ils ne pouvaient synthétiser eux-mêmes. Les phospholipides et les protéines des milieux de cultures n'intervenaient que pour permettre l'incorporation de ces lipides dans la cellule mycoplasmale.

L'Agent d'EATON n'échappe pas à cette règle, au contraire, il est un des plus difficiles à cultiver, nécessitant l'adjonction d'extraits de levure fraîche de boulanger pour une culture lente en 6 à 20 jours.

Le milieu le plus couramment utilisé est le milieu de HAYFLICK et CHANOCK (65) qui est un milieu solide composé d'un milieu de base "Difco PPLO Agar Dehydrated" auquel on ajoute pour un litre de milieu final :

- 200 ml d'un pool de sérums de chevaux
- et 100 ml d'extrait de levure à 25 %.

Un milieu liquide existe, de même composition, à l'exception de la gélose (qui est à 1 % dans le milieu solide). Ces milieux sont utilisés à pH

alcalin de 7, 6 à 8 et la culture est faite en atmosphère humide entre 33 et 37°.

Les colonies obtenues sur milieu gélosé sont de très petites tailles : 10 à 600 µ de diamètre, nécessitant l'examen au microscope à faible grossissement.

Mycoplasma pneumoniae ne donne pas les classiques colonies en "oeuf sur le plat" communes à de nombreuses autres espèces, mais des colonies muriformes, sans bordure périphérique.

La culture peut être neutralisée par un antisérum spécifique.

Cependant la culture de mycoplasma pneumoniae en milieux vivants : cultures cellulaires et oeuf embryonné est également possible, elle avait été d'ailleurs réalisée avant sa culture sur milieu inerte.

Enfin mycoplasma pneumoniae est pathogène pour le hamster et le sigmodon chez qui il provoque des pneumopathies.

En dehors de ces propriétés générales, mycoplasma pneumoniae possède d'autres caractères pouvant aidér à son diagnostic.

Il est capable de fermenter certains sucres et en particulier le glucose (FREUNDT).

Il possède en aérobiose une hémolysine capable d'agir en particulier sur les hématies de cobaye (CLYDE - SOMERSON - TAYLOR - ROBINSON). Cette hémolysine provoque sur gélose au sang de cobaye à 3 % , l'apparition rapide en 24 à 48 heures, de plages circulaires d'hémolyse β autour des colonies.

Il est capable d'adsorber à la surface de ses colonies les hématies d'un certain nombre d'animaux (DEL - GUIDICE - PAVIA). Les hématies hémadsorbées sont ensuite lysées. Tout se passe donc comme si hémolysine et phénomène d'hémadsorption-lyse étaient réliés entre eux.

Enfin mycoplasma pneumoniae diffère des autres espèces par deux dernières propriétés ; il réduit en aérobiose le chlorure de Triphényltétrazonium (T.T.Z)et il n'est pas inhibé par le bleu de méthylène à 0,2 % (KRAYBILL - CRAWFORD).

Mais ce sont surtout les critères antigéniques qui permettent d'isoler mycoplasma pneumoniae des autres souches humaines de mycoplasma.

Ses relations antigéniques avec elles sont en effet minimes.

Par les techniques d'immunofluorescence sur coupes d'embryons de poulet infectés et d'inhibition de la culture qui se sont montrées les plus sensibles, il n'y a aucune réaction croisée.

Par réaction d'hémagglutination indirecte une minime relation antigénique est notée avec mycoplasma Hominis type 1, et de même en réaction de fixation du complément avec mycoplasma Salivarium.

Les techniques sérologiques de diagnostic sont nombreuses, mais certaines, complexes, comme l'immuno-fluorescence sur coupes histologiques d'embryons de poulet infectés, comme l'hémagglutination conditionnée ou l'inhibition de la réduction de Tétrazonium sont du domaine des laboratoires de recherche.

En pratique, la mise au point de techniques d'immuno-fluorescence sur les colonies de mycoplasma sur gélose se montre plus facile si elle est un peu moins sensible, et enfin la préparation par extraction à l'éther ou au chloroforme d'un antigène lipidique fixant le complément, permet d'introduire la réaction de fixation du complément dans la pratique courante.

A côté de ces réactions spécifiques restent à signaler deux tests sérologiques non spécifiques qui ont été utilisés, mais qui tendent à l'heure actuelle à céder le pas aux réactions spécifiques mentionnées plus haut, du fait de leur absence de corrélation totale avec les infections à mycoplasma pneumoniae. Ce sont : la recherche des agglutinines froides qui sont présentes dans 50 % environ seulement des cas, mais qui peuvent inversement exister dans d'autres pneumonies atypiques, et la recherche des agglutinines pour le streptocoque MG qui n'est positive que dans environ 25% des infections à mycoplasma pneumoniae.

CHAPITRE II

LES METHODES ET TECHNIQUES DE LABORATOIRE

Avant de commencer leur exposé il nous faut d'emblée insister sur le fait que l'enquête de laboratoire n'est susceptible de fournir des résultats valables que si l'on applique pour la culture et l'isolement des agents et surtout pour les prélèvements sanguins pour étude sérologique une technique rigoureuse nécessitant une collaboration étroite du biologiste, du malade et de sa famille, et du clinicien.

Nous envisagerons successivement :

I - Les prélèvements - 1 - pour isolement de l'agent
2 - pour sérologie

II - Les techniques d'isolement

III - les techniques sérologiques.

I - LES PRELEVEMENTS

A - Prélèvements pour essais d'isolement

De la qualité du prélèvement dépend le pourcentage d'isolements positifs.

1 - Prélèvements pharyngés

Ils sont faits le plus précocément possible par le personnel du laboratoire : dans toute la mesure du possible dans les 24 premières heures de l'hospitalisation du malade . Ils consistent en deux écouvillonnages successifs avec écouvillons-sérum.

- Pour les virus deux modalités différentes ont été mises en oeuvre, avec une fréquence plus grande pour la 2e.

a - ou bien on a pratiqué une inoculation immédiate au lit du malade en cultures cellulaires,

b - ou bien le prélèvement a été mis en milieu de conservation immédiatement après le prélèvement.

Le meilleur milieu est à notre avis le lait écrémé + antibiotiques. Les 2 tubes de milieu de conservation "ensemencés" sont envoyés alors de suite au laboratoire, sans mise en congélation préalable, du fait de la proximité de celui-ci et du court laps de temps nécessaire au transport.

Si néeessaire le prélèvement peut-être placé à + 4°C.

c - Lorsqu'on envisage une inoculation au souriceau nouveau-né ,en oeuf embryonné le prélèvement est mis en liquide de Hanks + antibiotiques.

- Pour Mycoplasma pneumoniae

Le prélèvement pharyngé prélevé sur écouvillon est ensemencé immédiatement au lit du malade dans un milieu liquide pour enrichissement pour P.P.L.O.

2 - Prélèvements de matières fécales

Ils sont pratiqués bien sûr pour recherches du virus exclusivement Dans ce cas, la précocité du prélèvement nous a paru moins indispensable, mais nous les avons toujours faits au plus tard avant le 3e ou 5e jour après le début de la maladie - C'est la période la plus favorable et qui donne les résultats les plus valables, car elle permet d'éviter en général de se trouver en présence d'agents de surinfection hospitalière qui sont toujours possibles.

Le problème s'est posé de savoir si l'on devait répéter les examens et par là même les prélèvements. Nous avons constaté que nous n'avions pas de résultats supérieurs si le prélèvement initial avait été effectué très précocément et très correctement par le personnel du laboratoire lui-même. Nous ne pratiquons donc qu'un seul prélèvement le plus tôt possible.

B - Prélèvements des sérums :

1 - Dès l'hospitalisation, en pratique aussitôt après avoir fait le prélèvement pour essais d'isolement, on fait un prélèvement de sang de 2 ml minimum, sans anticoagulant, qui après coagulation et centrifugation fournira le sérum précoce.

La manipulation est faite à 37° si l'on envisage la recherche des agglutinines froides.

2 - Date des prélèvements des sérums tardifs

En théorie un prélèvement fait au I0 e, I2e jour après le début de la maladie est valable pour tous les cas sauf pour Mycoplasma Pneumoniae et pour Rickettsia Burnetii où l'on doit attendre le 21e jour.

Cependant, il nous est apparu, que chez le nourrisson et le jeune enfant, l'apparition des anticorps est certainement plus lente et moins importante que chez l'adulte et l'enfant plus âgé.

Pour obtenir des résultats sérologiques valables et interprétables nous avons donc conclu :

- qu'un sérum tardif au 10e 12e jour serait très souvent suffisant chez l'adulte,
- qu'un sérum tardif au 21e jour, n'est en tous cas jamais trop tardif pour l'adulte, et est souvent le seul qui permettra de constater une ascension caractéristique du taux des anticorps et donnera donc des résultats utilisables chez les jeunes enfants.

Nous avons donc essayé d'obtenir ces 2 sérums tardifs ou tout au moins le deuxième le plus souvent possible, mais nous devons signaler les difficultés pratiques rencontrées pour leur obtention : nécessitant pour les enfants un minimum de compréhension et de coopération de la part de la famille, qui doit ramener l'enfant au laboratoire pour le prélèvement, l'hospitalisation étant, dans la règle, terminée à ce moment depuis plusieurs jours.

Tous les sérums, après décantation, seront immédiatement stockés à -20°C, jusqu'au moment des examens.

II - TECHNIQUES D'ISOLEMENT UTILISEES

A - Virologie

Nous avons utilisé presqu'exclusivement les cultures cellulaires. Nous n'avons pratiqué l'inoculation à l'oeuf embryonné (en cavité amniotique) et à l'animal (souriceau nouveau-né en intra-cérébral) que de façon épisodique et guidés par la clinique ou le résultat de réactions sérologiques.

Nous envisagerons donc surtout la technique utilisée en cultures cellulaires.

L'ensemencement est réalisé dans le plus bref délai après que le prélèvement ait été mis en milieu de conservation. Le lait écrémé + antibiotiques, ou le Hanks + antibiotiques éventuellement, est centrifugé pendant 10 minutes à 2000 tours/minutes.

Le surnageant est alors inoculé dans les tubes de cultures cellulaires à raison de 0,I à 0,2 ml par tube.

Le reste du prélèvement est ensuite placé immédiatement au congélateur et conservé à - 65°C pour reprise et contrôles ultérieurs éventuels.

La température de -20°C est certainement particulièrement nuisible à la conservation de nombreux agents (les myxovirus en particulier). C'est pourquoi nous ne conservons jamais nos prélèvements à cette température. Lorsque nous n'avons pas eu la possibilité d'inoculer immédiatement les cultures cellulaires pour une raison quelconque, nous avons placé nos prélèvements le plus rapidement possible au congélateur à - 60° - - 65° C. Puis, au moment de l'inoculation en cultures cellulaires, nous pratiquons une décongélation rapide, et après centrifugation nous opérons comme précémment décrit.

1 - TYPES de cultures utilisées

Nous inoculons systématiquement pour tous les prélèvements 2 tubes de chacun des types de cultures de cellules suivants :

- cellules de rein de singe de primo-explantation
- cellules amniotiques humaines de primo-explantation
- cellules thyroïdiennes
- cellules KB

Ceci représente le minimum que nous utilisons. Nous y adjoignons dans la mesure où elles sont disponibles, ou pour certains travaux particuliers :

- soit des cellules Hela ou Hep 2
- soit des cellules embryonnaires humaines : rein, ou poumon.

Enfin, pour isoler certains virus avec le maximum de chance, il semble nécessaire d'utiliser systématiquement, comme nous le faison depuis quelques mois seulement, une souche de cellules diploïdes d'origine humaine : fibroblastes de poumon embryonnaire.

2 - Conditions de culture

Nous utilisons pour ces cultures des tubes 12/120 et des tubes de Leighton à lamelles.

a - Cultures en tubes 12/120 inclinés placés en Roller tubes - La température de culture est de 34 à 35°C.

Les tubes inoculés sont changés de préférence 3 heures après l'inoculation ce qui diminue les risques de contaminations microbiennes et les effets cytotoxiques sans modifier sensiblement le pourcentage et la précocité des isolements.

Les milieux d'entretien utilisés sont :

- pour toutes les cellules sauf les cellules diploïdes : soit le milieu de base hydrolysat lactalbumine Earle :
  - sans sérum pour les cellules de rein de singe

- avec 2 % de sérum de veau décomplémenté pour les cellules thyroïdiennes et amniotiques,
- avec 5 % de sérum de veau décomplémenté pour les cellules KB, Hela et Hep 2.

soit le milieu 199 avec ou sans sérum selon les différents types cellulaires comme indiqué ci-dessus

- Pour les cellules diploïdes : milieu de Eagle avec 2% de sérum de veau décomplémenté avec 2,20 g % de bicarbonate afin de maintenir le pH du milieu vers 7,3 à 7,5.

Le milieu d'entretien est changé tous les 3 jours pour les cellules Hela, KB, et Hep 2 ; tous les 7 jours pour les cellules amniotiques, thyroïdiennes, et de rein de singe; à la demande pour les cellules diploïdes. Les tubes sont observés au microscope optique inversé 2 fois par semaine, à la recherche d'un effet cytopathogène.

Les cultures sont conservées au minimum 4 semaines pour tous les types cellulaires. Si , en l'absence de résultat positif dans les autres types cellulaires, un des types de cellules ne peut-être conservé pendant ce laps de temps, on effectue un passage à l'aveugle dans le même type cellulaire - mais ceci est à vrai dire exceptionnel, même pour les cellules en lignée continue dans les conditions de culture précisées ci-dessus : ces cellules gardant après 4 semaines un aspect très satisfaisant.

Au 15e jour, sur les cellules de rein de singe, pour lesquelles on a introduit de nombreux tubes témoins non inoculés, sur ces cellules donc si on n'observe aucun effet cytopathogène, on recherche une hémadsorption éventuelle à l'aide d'hématies de cobaye. Ces hématies conservées en solution d'Alsever, sont lavées 2 fois en tampon-phosphate, puis mises en suspension à 0,2 % du culot dans le milieu de culture : milieu I99 ou de Earle sans

sérum - on ajoute alors 1 goutte de cette suspension (0,05 ml) par tube de culture - Les tubes placés en portoir incliné, sont mis alors à + 4° pendant 1 heure.

Au bout de ce laps de temps nous faisons la lecture. Nous commençons par lire les tubes témoins : s'ils sont normaux, c'est-à-dire s'ils ne présentent aucun phénomène d'hémadsorption visible, nous poursuivons alors la lecture sur les tubes inoculés.

Si les tubes témoins présentent un phénomène d'hémadsorption traduisant la culture d'un virus latent du singe, le prélèvement initial conservé à -60, -65°C sera repris dans un nouveau lot de cellules de rein de singe.

b - Identification : ne voulant pas surcharger ce chapitre qui ne ferait qu'énumérer succintement les techniques utilisées qui sont classiques, nous n'insisterons que sur certains aspects un peu particulier à notre travail

Les tubes présentant un effet cytopathogène ou un phénomène d'hémadsorption seront passés dans les différents types cellulaires en tubes inclinés et en tubes à lamelles de Leighton.

- A partir des tubes de Leighton on précisera le type d'effet cytopathogène après coloration à l'hémalum-éosine ou au May-Grunwald-Giemsa.

- A partir des cultures en tubes inclinés on pourra réaliser l'identification :

- par déviation du complément pour les adéno-virus, le V.R.S. la grippe, les para-influenzae , les réovirus.
- par neutralisation pour les entéro-virus et l'herpès
- par inhibition de l'hémadsorption pour les para-influenzae ou la rougeole.
- par inhibition de l'hémagglutination pour certains types d'adénovirus pour les réovirus.

- Sur les lamelles des tubes de Leighton, nous utilisons pour certains virus, des techniques d'immuno-fluorescence.

Précocément après passage en ces tubes, dès le début d'un effet cytopathogène éventuellement ou au plus tard le 3e jour après une fixation à l'acétone à -20°C nous pratiquons :

- soit une méthode directe par les sérums marqués
- soit une méthode indirecte : sérum + antiglobuline marquée.

Pour ces technique 1 lamelle fournit 3 fragments. Nous utilisons cette technique pour l'identification rapide des VRS, des para-influenzae et des réovirus.

En terminant ce paragraphe nous voulons signaler que lorsque un virus n'a été isolé que sur un seul type cellulaire, l'isolement est toujours contrôlé en reprenant le prélèvement congelé à - 60° C dans un autre lot de ce type cellulaire. Ceci est fait non seulement pour les cellules de rein de singe où ce contrôle est primordial, mais également pour les cellules de primo-explantation : cellules amniotiques en particulier, mais même pour les cellules de lignées continues.

B - ISOLEMENT DE MYCOPLASMA PNEUMONIAE

Les bouillons d'enrichissement pour P.P.L.O. inoculés avec le prélèvement sont placé à 35° pendant 8 jours.

Puis avec ces bouillons nous ensemençons des milieux solides - Le milieu que nous utilisons a la formule suivante :

- Agar PPLO Difco = 7 vol.
- Sérum de poulain = 2 vol
- Extrait frais de levure à 25 % = 1 vol.
- Fraction pour PPLO 1 %
- Glucose 1 %
- Rouge de phénol (solution à 2 °/₀₀) qsp, qui sertà contrôler le pH du milieu à 7,3 - 7,5.

Après avoir coulé ce milieu en boîte de Pétri de 100 mm de diamètre on l'ensemence avec 0,I à 0,2 ml de bouillon d'enrichissement par boite.

Les boites sont alors placées pendant 2 à 3 heures en étuve classique pour sécher un peu la surface, puis elles sont mises en caissons étanches en atmosphère humide, avec 10 % de CO_2 et à 34-35° C. Elles sont conservées pendant 4 semaines.

Pendant ce temps, on les observe 2 fois par semaine au grossissement x 100 du microscope.

Les colonies suspectes sont repiquées en milieu liquide. Les caractères d'orientation en faveur de mycoplasma Pneumoniae sont - la fermentation du glucose.

- l'hémolyse Béta sur milieu solide des hématies de cobaye
- voire la résistance au TTZ

L'identification est réalisée par les techniques d'immuno-fluorescence à l'aide des sérums anti-mycoplasma pneumoniae.

Nous n'insisterons pas sur les méthodes utilisant l'oeuf embryonné ou le souriceau nouveau-né : elles utilisent des techniques classiques que nous n'avons pratiquées que de façon épisodique - Leur apport ne semble pas avoir modifié les résultats obtenus et que nous exposons plus loin.

III - LES TECHNIQUES SEROLOGIQUES

Les sérums ont été utilisés à deux fins :

A - soit pour apporter un élément présomptif complémentaire vis à vis des agents isolés en recherchant l'existence d'anticorps spécifiques contre ces agents,

B - soit par des réactions sérologiques proprement dites : recherches de l'apparition d'anticorps chez les malades.

A - Recherche d'anticorps vis à vis des souches isolées

Chaque fois que nous avons isolé un agent soit de la gorge, soit des selles, soit à partir des 2 types de prélèvements, nous avons recherché parallèlement sur le sérum précoce, sur le ou les sérums tardifs la présence d'anticorps et leur taux vis à vis de cet agent, ou d'un antigène correspondant.

Les techniques utilisées sont variables , nous en dirons un mot plus loin - Elles consistent soit en une réaction de déviation du complément le plus souvent (avec les adénovirus,le VRS par exemple), soit en une réaction de séro-neutralisation -(avec les entérovirus par exemple).

B - Réactions sérologiques proprement dites

Ces réactions constituent un groupe standard appliqué à tous les sérums de malades de pneumopathies.

1 - Technique utilisée

En réaction de fixation du complément :

Nous utilisons soit une technique en plaques de plexy-glass, soit une microtechnique en plaques de TAKATSY par réduction des volumes des différents éléments de la réaction.

La technique est identique pour toutes les recherches, seul varie l'antigène.

Nous indiquons notre technique en plaque de plexiglass : qui comprend tout d'abord un titrage du complément, puis la réaction proprement dite :

I - Titrage du complément (C')

1 - Préparer :

a - 1 dilution mère du C' au 1/20e

1 ampoule 0,5 ml C' dans 9,5 ml de tampon

(tampon utilisé : C' fixation test diluent tablets *Oxoid)

b - 1 dilution du sérum hémolytique au 1/300e

(3 unités hémolytiques dans 0,1 ml)

(3 gouttes dans 12,5 ml de tampon)

c - Laver les globules de mouton 3 fois en tampon et préparer 1 suspension à 2 % en tampon.

(0,2 ml de culot globulaire pour 12,5 ml de tampon)

(correction selon l'hématocrite si nécessaire).

2 - Préparer des dilutions progressives du C' à partir de la dilution mère au 1/20e (10 tubes).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Dilution	1/20	1/30	1/40	1/50	1/60	1/70	1/80	1/90	1/100	1/120
Tampon (en ml)	-	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	1,00
Dilution C'1/20 en (ml) (dl.mère)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

3 - Préparer les G.R. sensibilisés.

2 tubes = 1 avec x ml. sérum hémolytique dilué)

1 avec x ml. suspension GR à 2 %) q. égales

mélanger rapidement par transversements successifs.

4 - Prendre 1 plaque à godets

Dans chaque godet d'1 plaque horizontale mettre :

- 11 gouttes de la dilution correspondante du C' (en commençant par la dilution la plus forte)
- IV gouttes de tampon Véronal
- IV gouttes de globules rouges sensibilisés

Placer à l'étuve à 37° pendant 30 minutes.

La dilution la plus forte qui donne une hémolyse complète contient 1 unité de C'.

On emploiera dans la réaction 2u de C' c'est à dire une dilution 2 fois moins forte de C' que celle donnant l'hémolyse complète.

II - REACTION proprement dite

- Diluer les sérums aux taux indiqués (en pratique pour Test qualitatif initial : sérums dilués au 1/10e)

Prévoir 4 gouttes de dilution par sérum + 2 gouttes pour le témoin Par sérum = 2 godets réaction + 1 godet témoin sérum au 1/10e (qui sera commun si d'autres réactions de fixation du C' sont faites vis à vis d'autres virus).

	Ag spécifi.	Ag. Témoin	Témoin sérum	Témoin Ag	Témoin C'		Témoin GR.
					2 u	1 u	
Ag. spécifique dilué	2	-	-	2	-	-	-
Ag. témoin dilué	-	2	-	-	-	-	-
Sérum au 1/10e	2	2	2	-	-	-	-
Tampon	-	-	2	2	4	5	6
C' à 2 u	2	2	2	2	2	1	-
		FIXATION - 1 HEURE A 37 DEGRES					
G.R. sensibilisés	4	4	4	4	4	4	4
		REACTION - 30 minutes A 37° LECTURE					

N.B. - 1 - tous les chiffres donnés dans la technique sont des gouttes Normales.

2 - Pour la lecture il convient de surveiller attentivement les témoins C'.

Lorsque le témoin C' à 2 u. est totalement hémolysé et que le témoin C' à 1 u. n'a qu'une hémolyse partielle, il y a avantage à mettre à ce moment les plaques à + 4° pour arrêter l'hémolyse et permettre la sédimentation qui facilite la lecture.

3 - Les témoins antigène doivent être hémolysés (Ag non anticomplémentaire).

Les témoins sérums doivent être hémolysés (sérum non anticomplémentaire).

Les témoins GR ne doivent pas être hémolysés.

4 - S'il y a absence d'hémolyse nette pour l'antigène spécifique dans le tube réaction = la réaction est positive au taux 1/10e il convient alors de faire la réaction quantitative pour titrage. Toutes nos réactions de fixation du complément sont faites actuellement comme nous l'indiquons avec fixation à 37° pendant 1 heure. La fixation à + 4° pendant I8 heures que nous avons faite simultanément pendant un certain temps, ne nous apparaît pas nécessaire, tant pour le pourcentage de résultats que pour les taux obtenus - C'est pourquoi nous l'avons abandonnée.

La technique en plaque de TAKATSY est réalisée exactement de la même manière - Intéressante surtout chez les nourrissons car elle permet une importante réduction des doses . Nous utilisons dans ce cas :

- Ag dilué = 1 goutte
- Sérum dilué "
- C' (2u) "
- Tampon " "
- GR sensibilisés = 2 gouttes (les gouttes sont ici mesurées avec les pipettes de TAKATSY correspondant à : 0,025 ml pour 1 goutte).

b - Taux de dilution des sérums

- Dans un premier temps le ou les sérums tardifs sont testés à la dilution de 1/10e vis à vis des différents antigènes, sauf pour l'antigène Ornithose Psittacose, où la réaction est réalisée d'emblée en quantitative, car nous avons constaté à quelques reprises l'existence pour cet antigène d'un phénomène de zone.

- Tous les sérums donnant à cette dilution une réaction de fixation du complément positive sont repris en quantitatif avec le ou les antigènes correspondants, parallèlement au sérum précoce que l'on étudie seulement à ce moment.

Les dilutions que nous réalisons systématiquement alors sont des dilutions de raison 2 du I/10e au 1/320e.

Pour chaque série de réactions, les antigènes sont contrôlés à l'aide de sérums témoins positifs et négatifs.

c - Les antigènes utilisés

Nous utilisons régulièrement les antigènes suivants: Adénovirus, grippe A, grippe B, para-influenzae I (Sendaf et HA_2) para-influenzae II et III Ornithose-Psittacose - Réo-virus, V.R.S.

En outre, récemment, nous avons introduit dans nos séries systématiques un antigène pour Mycoplasma Pneumoniae.

Eventuellement, si d'autres virus sont isolés au cours de manifestations respiratoires, comme certains Coxsackies, l'antigène homologue est pendant une certaine période utilisé.

2 - Réaction de microagglutination sur lame de Coxiella Burnetii.

Pratiquée selon la technique classique de P. et M.L. GIROUD (1943) (61). Le sérum décomplémenté au bain-marie à 56° pendant 30 minutes est ensuite dilué comme pour les réactions de fixation du complément - mais nous

ne dépassons pas ici la dilution de 1/80e : le taux de dilution de 1/20e pouvant déjà être considéré comme significatif pour cette Rickettsie - Les dilutions utilisées sont de 1/10 - 1/20 - 1/40 - 1/80e.

Dans 1 plaque à godet nous mettons en présence

1 goutte de chacune des dilutions

et 1 goutte de l'antigène (suspension Rickettsienne purifiée de l'Institut Pasteur).

On mélange et on aspire avec 1 pipette effilée le mélange dont on dépose une goutte sur lame de verre (préalablement marquée au marqueur à verre).

On commence par les dilutions les plus fortes.

Au-dessous de chaque goutte est déposée une goutte témoin faite d'un mélange de l'antigène et d'un sérum normal aux mêmes dilutions.

Ainsi préparée, la lame est placée sur 1 chevalet dans une boîte de Pétri contenant un peu d'eau pour éviter la dessication, et laissée à la temrature du laboratoire pendant une nuit.

Le lendemain la lame est séchée à l'étuve à 37° - Puis, après fixation par le méthanol pur, elle est colorée au May-Grunwald-Giemsa.

L'examen a lieu à sec au microscope au faible grossissement en centrant sur les agglutinats centraux de la goutte, puis au fort grossissement à l'immersion pour ces agglutinats centraux.

Citons les essais récents, effectués en parallèle à cette réaction, de la recherche des anticorps vis à vis de Coxiella Burnetii par la technique indirecte des anticorps fluorescents.

3 - Enfin nous ne tiendrons pas compte dans cette étude des résultats de la recherche des agglutinines froides qui furent pratiquées en début d'étude avec des déboires surtout du fait pour nombre de nos sérums , de la nécessité d'un transport.... et de la difficulté d'opérer sur eux immédiatement

à 37°, La signification de nos résultats est de ce fait trop discutable, et surtout sans commune mesure avec les tests spécifiques que nous commençons à pratiquer pour Mycoplasma Pneumoniae.

C - INTERPRETATION DES RESULTATS

L'interprétation des résultats est à notre avis une des difficultés majeures de l'enquête sérologique. Cette difficulté résulte essentiellement du fait que la majorité des malades que nous avons étudiés étaient de jeunes enfants ou des nourrissons.

En plus des difficultés que nous avons signalées auparavant, pour la recherche des anticorps et pour leur détection à des taux appréciables avant la troisième semaine d'évolution de la maladie, il nous est apparu que les taux considérés comme significatifs chez l'adulte ne devaient pas être transposés chez les jeunes enfants - De même nous avons remarqué qu'il était rare que chez ces enfants et nourrissons on observe une ascension du taux des anticorps aussi franche que chez l'adulte. Enfin , nous avons souvent constaté une apparition d'anticorps à des taux assez faibles chez les individus qui n'en possédaient pas antérieurement.

Ceci nous amène donc à distinguer l'interprétation chez l'adulte et chez les jeunes enfants, interprétation différente par ailleurs si l'on ne dispose que d'un sérum tardif, ou si l'on dispose d'un sérum précoce et d'un ou deux sérums tardifs.

1 - Chez l'adulte et chez l'enfant de plus de 4 ou 5 ans

a - Sérum tardif isolé

Le taux significatif pour des sérums du I0e au I2e jour de la maladie varie selon les agents - Nous considérons comme valables les taux suivants :

- 1/40e en réaction de fixation du complément (RFC') pour la grippe.
- 1/40e en RFC pour adénovirus

- 1/80e en RFC pour virus para-influenzae I. II. III.
- 1/80e en RFC pour VRS
- 1/80e en RFC pour réovirus
- 1/80e au RFC pour ornithose-psittacose
- enfin 1/20e par microagglutination au 21e jour pour Coxiella Burnetti

Nous n'avons pas encore d'opinion personnelle pour les taux d'interprétation en RFC pour Mycoplasma Pneumoniae du fait du début encore trop récent de nos études pour cet agent.

b - Comparaison entre sérum précoce et tardif.

Nous considérons comme valable, du fait des conditions de conservation de nos sérums, du parallélisme des réactions effectuées et de la technique utilisée, une différence de deux dilutions c'est à dire une augmentation du double du taux des anticorps, ou encore l'apparition d'anticorps dans le sérum tardif à un taux égal à la moitié de celui indiqué au paragraphe précédent, si le sérum précoce n'en contenait pas - Ces taux correspondent à des études faites en RFC' pour les antigènes viraux sus-cités et pour les Ag du groupe ornithose-psittacose.

2 - Chez le nourrisson et le jeune enfant

a - Sérum tardif isolé

Ce cas a été exceptionnel dans le cadre de notre étude et nous ne pouvons avoir à ce sujet d'opinion précise à formuler.

b - Comparaison sérum précoce - sérum tardif

Ceci a été la règle dans notre enquête.

Nous insisterons à nouveau sur le retard important que nous avons constaté dans l'apparition des anticorps chez les très jeunes enfants. C'est pourquoi les examens pratiqués vers le I0e ou 12e jour ont été assez décevants

par rapport aux résultats obtenus par d'autres auteurs sur les sérums du 21e jour au 30e jour environ.

Le plus souvent nous avons assisté à l'apparition d'anticorps sur le sérum tardif.

Négativité sur sérum précoce au 1/10e, positivité à cette dilution ou à des dilutions supérieures apparaissant dans les sérums tardifs.

Nous considérons comme valable, toute apparition d'anticorps à un taux supérieur au 1/10e en RFC.

Au cas, assez rare cependant, où des anticorps existent antérieurement une augmentation de 2 dilutions nous paraît devoir être considérée comme significative.

c - Enfin reste le problème classique des anticorps que peuvent posséder de jeunes enfants du fait de la transmission maternelle passive de ces anticorps.

Nous avons eu la surprise d'en constater l'extrême rareté même chez de très jeunes enfants de moins de six mois. Ils ne nous ont donc pas paru pouvoir poser de problème important dans l'interprétation de nos résultats.

Après cet exposé, nous allons regrouper schématiquement dans le tableau ci-après les techniques utilisées pour aboutir au diagnostic étiologique tant par la recherche des agents responsables, que pour la mise en évidence des anticorps sériques.

TECHNIQUES UTILISEES POUR LA RECHERCHE DE L'ETIOLOGIE DES MALADIES RESPIRATOIRES NON BACTERIENNES

AGENTS	Cultures Cellulaires	Oeuf embryonné	Souriceau nouv.né	R.F.C.	Inhibition hémadsorp.	Inhibition Hémagglu.	Autres techniques
Grippe A	+	+ E (2)	-	+		E (1)	
B	+	+ E (2)		+		E (1)	
Adénovirus	+			+			
Parainfluenzae I	+			+	+		
II	+			+			
III	+			+	+		
Réovirus	+			+		+	
V.R.S.	+			+			
Coxsackies	+		+E(2)	+(4)			Séro-neutral. S. (4)
Echo	+			+(4)			Séro-N(4)
Ornithose Psittacose	-	-	-	+			
Coxiella Burnetti	-	-	-	+(3)			IF (3) micro-agglut. sur lame
Mycoplasma pneumonias	culture sur milieux spéciaux			+			IF

NOTES (1) - Pour typage exact des souches ces techniques sont confiées à des laboratoires spécialisés.
(2) - E.: Techniques n'ayant été utilisées qu'exceptionnellement
(3) - Utilisée au contrôle des réactions positives en microagglutination sur lame
(4) - Technique utilisée épisodiquement sur la notion d'épidémie en cours réalisée vis à vis de souches isolées.

CHAPITRE III

ETUDES CLINIQUES ET BIOLOGIQUES

I - CLINIQUE

L'étude clinique des maladies non bactériennes de l'arbre respiratoire se prête mal à des descriptions schématiques de syndromes bien tranchés, tant il est vrai que l'on constate une gradation continue des cas les plus bénins habituels aux cas graves beaucoup plus rares , que l'on ne peut, dans la grande majorité des cas, noter de différences majeures et marquées entre les différents aspects possibles des atteintes de l'adulte et de l'enfant, qu'enfin même la distinction entre localisations hautes aux voies aériennes supérieures et localisations basses bronchopulmonaires est un peu artificielle puisque des signes pulmonaires marqués à la radiologie sont présents dans un certain nombre de cas au cours d'affections paraissant parfaitement localisées telles . des rhinopharyngites banales (BRETON) (12). L'arbre respiratoire forme en effet un tout vis à vis de l'agression bactérienne aussi bien que virale.

Ces restrictions étant faites, nous allons cependant essayer avec H.F. DOWLING (4I) de schématiser un certain nombre de syndromes viraux du tractus respiratoire.

I - Coryza ou Rhume commun.

(Common cold ou Coryzal syndrome des auteurs Américains).

Après une incubation de 2 à 4 jours il est caractérisé par une congestion aiguë naso-pharyngée provoquant une sensation d'obstruction nasale, des éternuements puis un écoulement nasal souvent abondant, aqueux ou muqueux. Souvent un mal de gorge est présent, ou plutôt, lorsque l'on intérroge bien ces malades, il s'agit d'une sensation de sécheresse et de picotements de la gorge. Enfin très fréquente également est l'augmentation de la sécrétion lacrymale avec larmoiement. Des symptômes généraux tels que : maux de tête, malaise et frissonnements peuvent être surajoutés, mais ils sont

rarement importants. La fièvre est rare. L'évolution est bénigne se faisant vers la guérison en quelques jours si aucune complication n'est survenue. Ces complications, peu fréquentes, sont essentiellement le fait de surinfections microbiennes qui vont prolonger quelque peu la durée de l'affection : catarrhe nasal purulent, otites.

2 - La grippe et les syndrômes grippaux
(Influenzae syndromes)

Dans sa forme typique, la grippe, après une incubation latente de 2 ou 3 jours qui passe inaperçue, présente un début brutal à tel point que le malade peut presque en fixer l'heure.

Ce début est marqué essentiellement par des symptômes nerveux : céphalées fronto-orbitaires intenses avec élancements paroxystiques, rachialgies associées à des myalgies provoquant des courbatures généralisées et des douleurs articulaires.

Puis rapidement la période d'état est atteinte chez un malade déprimé et asthénié. La température est élevée à 39,5 ou 40°C. Elle va le rester pendant 3 à 5 jours, avec parfois une légère chute intermédiaire suivie d'une réascension réalisant le classique mais inconstant V grippal de TEISSIER et MENU.

Le syndrome catarrhal est d'importance variable : marqué en général par une toux pénible, irritative, ne ramenant qu'une expectoration muqueuse rare, parfois même muco-sanguinolente, associée à une sensation douloureuse de la gorge et dans la poitrine. Des éternuements, un enchifrènement, un larmoiement, puis un écoulement nasal accompagne souvent les autres symptômes. Des épistaxis modérés peuvent survenir. A l'examen on retrouve à côté d'une langue que FAISANS a pu qualifier de "porcelainée" une rougeur diffuse du pharynx et des amygdales , l'auscultation pulmonaire ne révèle rien de bien caractéristique, quelques fois des râles de bronchite disséminés plus ou moins

intenses. Au bout de quelques jours, en l'absence de complications, la fièvre va tomber, le catarrhe s'atténuer progressivement. La convalescence sera prolongée par une asthénie, une lassitude anormalement marquée.

Mais cette forme pure de grippe peut se trouver aggravée ou prolongée par des complications qui sont le plus souvent dues à des surinfections bactériennes. Elles provoqueront le plus souvent vers le 4e ou 5e jour l'apparition de localisations pulmonaires ou pleurales avec signe en foyer. Les traitements antibiotiques actuels arrivent à les juguler évitant l'intrication aux manifestations oedémateuses fréquentes sur ce terrain fatigué de phénomènes de suppuration tels abcès du poumon ou pleurésies purulentes qui furent fréquentes lors de l'épidémie de 1918.

Tout autre est la grippe maligne où la fièvre est très élevée, les courbatures extraordinairement intenses. Et en quelques heures le visage devient terreux, plombé, les yeux sont cernés, le nez pincé, réalisant le classique faciès "grippé" qui a été décrit lors de cette même épidémie de 1918. La tension artérielle est effondrée. Le malade succombe en 2 ou 3 jours dans l'adynamie, à moins qu'il n'ait été emporté avant, brutalement, par une crise d'oedème aigu du poumon. La lésion anatomique dominante est ici la congestion et l'oedème généralisés à toute l'étendue de la muqueuse bronchique, aux alvéoles, à la plèvre qui sont le siège d'épanchements hémorragiques retrouvés par ailleurs en dehors des voies respiratoires sur la muqueuse digestive , les méninges et les principaux viscères.

3 - A côté de ces deux syndromes assez différenciés de "common cold" et de grippe se situent toute une série de tableaux cliniques intermédiaires : moins sévères dans leurs manifestations générales et fébriles que la grippe, mais plus riches en signes locaux que le coryza, que l'on pourrait baptiser du nom général de "Catarrhes fébriles respiratoires" pour correspondre à ce que les Américains dénomment : "Acute Respiratory Diseases" (A.R.D.).

Selon les manifestations sémiologiques, par prédominance de tel ou tel symptôme, nous allons essayer d'en schématiser quelques syndromes.

a - Pharyngite ou rhino-pharyngite
(Pharyngeal syndrome des Anglo-Saxons)

Ici le symptôme majeur est le mal de gorge avec douleur spontanée à la déglutition. Cependant dans la majorité des cas il n'est pas très prononcé. Il s'accompagne à l'examen d'une rougeur pharyngée et d'une rougeur avec augmentation de volume des amygdales si elles sont encore présentes. Il peut être observé parfois des exsudats pharyngés ou amygdaliens. Pour les cas un peu sévères on peut noter des adénopathies cervicales plus ou moins marquées légèrement douloureuses à la palpation. La toux est fréquente, rauque, s'accompagnant parfois d'un enrouement de la voix. Un coryza peut exister mais sans être le symptôme dominant. Les signes généraux sont faits de frissons, malaise, courbature modérée mais généralisée, migraine peu intense. La température est couramment entre 38 et 39°C. rarement plus élevée. L'évolution est bénigne en quelques jours.

A cette pharyngite peut s'ajouter un e conjonctivite, définissant le "pharyngo-conjunctival syndrome" des Anglo-saxons. Parfois uni-latérale cette conjonctivite est plus souvent bilatérale, avec larmoiement, photophobie et parfois douleurs des globes oculaires.

b - Herpangine

Plus fréquente chez l'enfant, quelques cas en ont été rapportés chez l'adulte. Souvent en rapport a-t-on pu dire avec une infection à virus Coxsackies et même à Coxsackie A 10. Elle est caractérisée par l'apparition, sur un fond de pharyngite, de vésicules claires de un ou deux millimètres de diamètre, qui deviennent louches puis s'ulcèrent et qui sont entourées d'une auréole rouge. Ces vésicules apparaissent le plus souvent sur le pharynx, sur le voile et les piliers du palais, mais peuvent exister sur la muqueuse buccale et gingi-

vale. La gorge n'est que modérément douloureuse. Une fièvre modérée à 38-39°C et des céphalées accompagnent dans la règle cette herpangine dont l'évolution est bénigne.

c - Syndrome laryngo-trachéo-bronchique

Ici accompagnant le mal de gorge on note une voix voilée, une toux rauque, sèche, harrasante, voire coqueluchoïde ne ramenant pas ou peu d'expectoration mucoïde. Par ailleurs s'ajoutent souvent des picotements ou une sensation de brûlures voire des douleurs rétro-sternales. L'affection peut être modérément fébrile et s'accompagner d'un malaise général.

L'auscultation pulmonaire, l'examen radiologique du thorax restent le plus souvent normaux.

Chez l'enfant peut survenir une dyspnée de type laryngé caractérisant alors le faux croup.

d - Syndrome Pleurodynique

Il est le plus souvent le fait des virus Coxsackies du groupe B. Les types B1 et B5 ayant été le plus souvent incriminés. Il est caractérisé par l'apparition brutale de douleurs intenses, superficielles, basothoraciques. Cette douleur est augmentée par les mouvements respiratoires ce qui provoque le seul lien de cette affection avec une maladie respiratoire car la respiration peut apparaitre superficielle, retenue par le malade pour ne pas majorer la douleur. Car il s'agit en fait de myalgies des muscles intercostaux qui peuvent d'ailleurs fréquemment gagner les muscles abdominaux, dorsaux voire même plus rarement les membres. L'auscultation pulmonaire et la radiologie sont normales. La fièvre est habituellement modérée. Migraines et sensation de malaise général varient en intensité. Des signes méningés ou encéphalitiques peuvent être associés quelques fois. Les rechutes ne sont pas rares, l'évolution n'en reste pas moins bénigne.

4 - Les bronchopneumopathies où l'atteinte basse du tractus respiratoire est prédominante et qui correspondent à ce que les Américains nomment "Lover Respiratory Diseases".

Dans ce groupe d'affections nous pouvons un peu artificiellement distinguer avec BRETON (12) :

- les bronchopneumopathies non dyspnéisantes
- les bronchopneumopathies dyspnéisantes ou bronchiolites

a - Les bronchopneumopathies non dyspnéisantes

Les tableaux diffèrent peu qu'il s'agisse d'enfants ou d'adultes.

Ils ont en commun l'existence de signes fonctionnels telle la toux, de signes physiques stéthacoustiques témoignant d'une atteinte des bronches, des bronchioles, plus rarement de l'existence d'un foyer parenchymateux, de signes radiologiques aussi allant de pair en général avec les signes physiques, mais pouvant être dissociés, d'une base anatomique commune enfin : il s'agit de lésions de pneumopathie interstitielle avec infiltration de cellules mononucléés au niveau des tissus péri-bronchiques et périvasculaires.

Ces affections frappent avec prédilection les enfants au début de l'âge scolaire de 6 à 10 ans, mais se rencontrent cependant à tous les âges.

Après une incubation silencieuse de 2 à I0 jours le début est en général marqué par une atteinte des voies respiratoires supérieures : simple rhinopharyngite congestive, non purulente, avec hyperthermie brusque et signes généraux peu alarmants . Peuvent se surajouter parfois une conjonctivite, ou des manifestations abdominales digestives ou pseudo-appendiculaires, voire parfois des signes méningés discrets ou des convulsions chez le jeune enfant. La toux apparaît bientôt, elle peut même être le premier signe apparent, sèche, de caractère irritatif elle est peu efficiente. Elle est souvent d'autant plus pénible que l'enfant est plus âgé, pouvant même entraîner des vomissements. Elle peut s'accompagner d'une très légère gène respiratoire, mais il n'y a pas de dyspnée à proprement parler.

La fièvre persiste en plateau pendant 3 à 5 jours puis va chuter brutalement en 24 heures ou par paliers en 2 à 3 jours tandis que les signes généraux s'amendent rapidement.

L'examen physique permet à l'auscultation d'individualiser grossièrement 3 schémas :

- une bronchite aiguë avec : soit de gros ronchus généralisés dans les deux champs pulmonaires, soit des râles plus fins disséminés . Ces signes sont les plus fréquents environ 60 % des cas;

- une pneumopathie localisée avec un foyer discret souvent un peu difficile à repérer parce que peu étendu et labile (environ 30 % des cas).

- enfin l'auscultation peut ne révéler pratiquement rien de spécial : il s'agit de formes cliniquement inaudibles où tout au plus remarque-t-on une respiration légèrement humée (10 % des cas environ).

L'examen radiologique va objectiver des anomalies apparaissant précocémment : dans 80 % des cas dès le 2e jour, qui peuvent donc même précéder assez souvent les signes physiques comme l'a signalé JEUNE en 1960. Les constatations radiologiques sont très variables. Elles peuvent avec JEUNE (79) être groupées schématiquement en 6 tableaux.

1 - majorations hilaires simples (12 à 15 % des cas)

2 - aspects hilifuges (25 à 30 % des cas) qui correspondent aux majorations hilaires signalées ci-dessus accompagnées d'une accentuation de la trame bronchovasculaire tendant à gagner les bases pour réaliser les images hilio-basales de GLANZMANN.

Ces images sont dans la règle bilatérales, presque toujours symétriques, d'intensité variable.

3 - Images réticulées (1 % des cas).

4 - Infiltrats (10 % des cas environ).

Ils apparaissent variables en nombre, en topographie et en dimensions. Leurs bords sont flous, ils apparaissent en général indépendants de la segmentation pulmonaire. Ils sont volontiers migrateurs .

5 - Images segmentaires (40 % des cas environ)

Leur topographie est variable , cependant ils sont le plus souvent situés dans le lobe supérieur du poumon. Leur intensité est en général discrète : leur densité est en effet modérée mais ils sont homogènes . Elles sont moins évocatrices d'une infection virale et la majorité des auteurs admet souvent à l'heure actuelle qu'elles correspondent à une surinfection bactérienne.

6 - Images pleurales (5 à 10 % des cas)

Il s'agit le plus souvent d'une très discrète réaction pleurale apparaissant sous forme d'un épaississement scissural ou du comblement d'un cul de sac, mais il peut exister un épanchement dû le plus souvent à un liquide séro-fibrineux lymphocytaire beaucoup plus rarement hémorragique avec ou sans éosinophilies. ROUMAGNOUX (133) note même davantage d'images pleurales, il est vrai dans une série d'affections dues aux adénovirus seuls, puisqu'il en relève 27 cas sur 65 observations présentées.

L'évolution, en dehors des cas de complications par surinfection bactérienne qui sont devenues beaucoup moins fréquentes, est en général simple.

La fièvre en quelques jours a disparu. Les signes physiques et la toux disparaissent plus progressivement en une à deux semaines, enfin les signes radiologiques un peu plus tenaces peuvent demander deux à quatre semaines pour s'effacer.

b - Bronchopneumopathies dyspnéfsantes ou Bronchiolites (1-12-43-50-53-66-113-137).

Ce sont des manifestations pulmonaires ayant comme trait commun une détresse respiratoire souvent marquée de survenue brutale ou rapidement

progressive . C'est une pathologie propre à l'enfant frappant essentiellement la première enfance et dans la majorité des cas même le premier semestre de la vie sans pour cela cependant être strictement limitée à cette tranche d'âge.

C'est après 24 à 48 heures d'évolution d'une rhino-pharyngite en apparence banale que débute, avec une ascension thermique, avec une toux sèche mais discrète chez le nourrisson, un peu plus pénible souvent chez l'enfant, le signe majeur : l'installation brutale ou très rapidement progressive d'une dyspnée majeure avec polypnée, battements des ailes du nez, tirage, cyanose et parfois un peu de spume aux lèvres réalisant le classique tableau du "catarrhe suffocant" de LAENNEC. L'enfant est abattu ou au contraire agité. Parfois des convulsions surviennent. Le coeur est rapide, le pouls déprimé. Contrastant avec ce tableau alarmant l'examen est en général pauvre : l'auscultation fait entendre des ronchus muqueux dans toute l'étendue des champs pulmonaires ou parfois un petit foyer, mais bien souvent rien ou bien peu. La radiologie si elle peut visualiser les différents aspects décrits auparavant est souvent normale (12-55-79).

L'évolution était classiquement imprévisible.

Il existait : des formes suraiguës , fatales en 24 à 48 heures, propres aux tout petits.

-des formes aiguës avec des rémissions ou des rechutes imprévisibles,

- des formes traînantes, grevées de différentes complications infectieuses banales : otites, sinusites, diarrhées ; ou plus graves : pleurésies purulentes, abcès du poumon ou dilatations bronchiques,

- des formes avec séquelles fréquentes dues aux troubles anoxiques et métaboliques de la période aiguë, consistant en encéphalopathies ou en atteintes rénales plus ou moins graves.

A l'heure actuelle la thérapeutique est plus efficace et mieux codifiée (12-37-50-66-82-129). Les antibiotiques , l'oxygénothérapie, et une meilleure correction des troubles métaboliques ont largement amélioré le pronostic.

Si les formes rapidement mortelles sont encore possibles, surtout avant l'âge de 5 mois, les complications et les séquelles sont devenues très rares et pour la grande majorité des cas l'affection est devenue bénigne.

II - ETUDES EPIDEMIOLOGIQUES ET ETIOLOGIQUES

L'étude épidémiologique des maladies respiratoires en dehors des grandes pandémies grippales est complexe (2-33-146). Certes, leur caractère saisonnier est bien établi : le nombre de cas observés est maximum dans la période comprise entre octobre et avril - l'étude de WILDER (159) est particulièrement démonstrative à cet égard. Mais à l'intérieur même de cette période se succèdent, comme le souligne STUART-HARRIS (146), une série de vagues et de creux - La température extérieure joue un rôle certain, mais également le degré d'humidité de l'air (152). Certains facteurs dus aux agents viraux eux-mêmes s'intriquent à ceux dus aux hôtes récepteurs. La concentration géographique humaine, l'âge, l'existence de tares éventuelles, les facteurs immunologiques sont autant de facteurs intervenant pour modifier l'aspect épidémiologique. Par ailleurs, il faudrait pouvoir tenir compte des nombreuses infections latentes. Le nombre élevé des différents virus isolés chez les malades atteints d'affections respiratoires impose de nombreuses investigations pour préciser le rôle pathogène de ces agents.

Avec WARD (157) et GELFAND (58) nous allons d'abord envisager les règles adoptées pour établir le rôle étiopathologique d'un virus, et qui sont, en quelque sorte "les postulats de KOCH" de la virologie.

- Les mêmes agents pathogènes doivent être isolés en plusieurs occasions de préférence au cours de petites épidémies de syndromes cliniques suffisamment caractéristiques et unimorphes.

- L'isolement de ce type viral doit être beaucoup moins fréquent chez des témoins bien portants.

- Les malades doivent faire l'objet d'investigations sérologiques qui feront la preuve de l'infection pour l'ascension du taux des anticorps neutralisants spécifiques du virus isolé.

- Le même syndrome clinique doit pouvoir être reproduit chez des volontaires.

Le virus inoculé doit pouvoir être isolé pour ne pas négliger l'existence de virus "de sortie".

Les recherches sérologiques doivent apporter la preuve de la réalité de l'infection provoquée par le virus expérimenté.

De plus WARD souligne qu'il est souhaitable de réunir deux autres critères :

- démontrer que les symptômes cliniques présentés par les volontaires sont en rapport avec le degré d'immunité antérieure : la quantité du virus nécessaire au développement de l'infection doit être inversement proportionnel au taux initial des anticorps neutralisants.

- enfin préparer un vaccin dont l'injection chez des volontaires sera suivie d'effets protecteurs lors d'une inoculation d'épreuve du virus.

De tels critères du pouvoir pathogène d'un virus exigent donc, lorsque la législation permet des expérimentations suffisamment vastes sur des volontaires pour prêter à des études statistiques, des recherches longues et difficiles qui ne peuvent être que le fait d'équipes et de laboratoires de recherches virologiques.

En pratique courante, les premières règles seules, peuvent suffir à réunir un faisceau de présomptions suffisantes pour avoir valeur de preuves et de certitude pratique sur l'étiologie virale d'une maladie donnée.

Sur ces bases de très nombreuses études ont été faites au cours des 15 dernières années, et à côté des nombreuses publications d'isolements de un ou quelques virus, à côté des études sérologiques systématiques sur les recher-

ches d'anticorps vis à vis d'un agent donné dans une population donnée (6-23-49-73-92-143), les statistiques publiées sont en général de deux sortes :

- ou à partir d'un virus donné sont présentés les syndromes cliniques observés,
- ou à l'occasion d'un tableau clinique donné sont indiqués les différents agents mis en cause.

Mais il faut souligner l'extrême variation selon le lieu et le temps des résultats fournis par l'enquête épidémiologique.

Pour Myxovirus influenzae, responsable d'un syndrome clinique en général bien défini, endémique avec des poussées de grandes pandémies, les études portent, en dehors des statistiques sur la mortalité, surtout sur les taux de morbidité selon l'âge.

C'est ainsi que FRANCIS en 1959 (14) note une morbidité de

- 28/1000 avant 5 ans
- 40/1000 de 5 à 19 ans
- 16/1000 de 10 à 65 ans.

Les infections à virus para-influenzae semblent être des plus fréquentes chez le jeune enfant et le nourrisson.

C'est ainsi que PARROT (113) indique que : 40 à 50 % des enfants de plus de 3 ans ont des anticorps contre le type 1 , que 25 % au même âge ont des anticorps contre le type 2, tandis que 80 % en ont contre le type 3.

Tandis que CHANOCK et Coll. (19) indiquent dans divers syndromes cliniques les pourcentages d'isolements viraux positifs suivants : (pourcentages qui sont parallèles à ceux qu'ils obtiennent par des études sérologiques).

- "Croup" (Pharyngite) : 17, 7 % para 1 ; 6 % Para 2 ; 3, 4 % para 3.
- Bronchiolite : 0, 5 % Para 1 ; 0, 2 % Para 2 ; 1, 4 % Para 3.
- Syndromes pneumoniques : 0, 5 % Para 1; 0, 2 % Para 2 ; 1, 4 % Para 3.
- Syndromes Pharyngo-trachéo-bronchiques : 0, 8 % Para 1 ; 0, 6 % Para 2 ; 2, 7 % Para 3 ;

- Rhinopharyngites bénignes : 2,3 % Para 1 ; 0,4 % Para 2 ; 3,3 % Para 3.

Nous retiendrons de cette statistique :

a - le rôle prépondérant des virus para-influenzae (29,3 %) dans le "croup" dont 17,7 % sont dus au seul Para-Influenzae 1.

b - le rôle important du Para-Influenzae 3 qui est en cause dans 16,4 % du total des "maladies virales respiratoires" de l'enfant.

Le Virus Respiratoire Syncytial paraît de même très répandu, pour un rôle pathogène plus marqué au cours de la première année de la vie, comme le montrent :

a - une étude de HILLEMAN (67) portant sur 108 isolements de VRS chez des enfants de moins de 8 ans, et qui rend cet agent responsable :

- dans 54,6 % des cas de maladies des voies aériennes supérieures
- dans 20,4 % des cas de bronchopneumopathies.
- dans 15 % des cas de trachéobronchites
- dans 10 % des cas de bronchiolites

b - Tandis qu'une étude de CHANOCK et Coll (23) chez 346 nourrissons de moins de 7 mois le montre responsable de 59 % des bronchiolites

- et de 54 % des bronchopneumopathies non dyspnéisantes

De même BEEM (5) isole le V.R.S. chez des enfants :

- dans 16 % des maladies respiratoires "supérieures"
- et dans 33% des maladies respiratoires "basses"

Les Adénovirus , dont certains types sont fréquemment retrouvés : type 3, 4 et 7 et à un moindre degré type 1, 2, 5, 8, 14 et 21, ont pu faire croire, peu après leur découverte, qu'ils allaient à eux seuls permettre d'expliquer une partie importante des infections respiratoires non bactériennes. De très nombreuses études ont ramené à une plus juste proportion leur importance dans ce cadre.

Ainsi CHANY (28) sur 273 cas de syndromes pneumoniques chez l'enfant, en relève 8,4 % dus aux adéno-virus.

De même VAN DER VEEN (154) relevant différentes statistiques internationales indique pour tous les types de maladies respiratoires des pourcentages variant de 2 à 9,3 % où les adénovirus sont en cause, avec cependant, deux études : l'une Chinoise, l'autre Suédoise, où I7 % et 24,8 % des cas furent attribués à ces agents.

Pour les Entérovirus : ECHO et Coxsackies virus, de même que pour les Réovirus, aucune statistique n'apparaît aussi nette que pour les agents précédents. Il semble que leur rôle dans l'étiologie de bronchiolites ou de bronchopneumopathies à type pneumonique soit très limité. Mais, il est certain qu'ils interviennent dans les maladies respiratoires "hautes" où dans des syndromes pseudo-grippaux, surtout l'été (en dehors des syndromes d'Herpangine et de Pleurodynie qui leur seraient presque propres).

Les plus fréquemment retrouvés, mais non les seuls, dans de tels cas sont les ECHO virus 11 et 20 et le Coxsackie A 21 (ancien Coëvirus).

Cependant une étude de VARGOSKO rapportée par JOHNSON (80) leur attribue une moyenne de 5 % des cas des maladies respiratoires basses et de 20 % environ des syndromes des voies aériennes supérieures, chez l'enfant.

Pour les Rhinovirus , de connaissance plus récente, en dehors de l'ancien ECHO 28, si tous les cas pathologiques qui leur sont rattachés pour les adultes sont des coryza, chez l'enfant, HILLEMAN et HAMPARIAN (69) leur attribuent pour 100 cas où ils sont en cause :

- 67 % de coryza
- 20 % de trachéobronchites
- 7 % de pharyngites
- 3 % de syndromes pneumoniques

Les Miyagawanelles de l'Ornithose et Coxiella Burnetii ont une place beaucoup plus modeste que les agents précédents dans le déterminisme de maladies respiratoires de l'enfant.

Pour PACCAUD (110) l'incidence de l'Ornithose est pratiquement nulle avant 5 ans.

SOHIER (141) sur 22 cas d'Ornithose en relève 3 cas chez des enfants de 3 à 5 ans.

Tandis que BRETON (14) sur 18 observations en présente 2 chez des enfants de 2 à 5 ans et 1 chez un enfant de moins de 2 ans.

Quant à la Fièvre Q, si dans la province de Quebec (14) 29 % des cas sont chez des enfants de 1 à 5 ans, PACCAUD (110) n'en retrouve que 3 à 4 % et SOHIER (141) qu'environ 1 % : 2 cas sur 241.

L'agent d'EATON enfin a de même une incidence bien moindre chez l'enfant que dans certaine collectivités d'adultes jeunes en particulier. Si CHANOCK et MUFSON (25-86) chez des recrues de la marine américaine indiquent 45, 9 à 68 % de pneumonies atypiques primitives dues à Mycoplasma Pneumoniae, chez les enfants, ces mêmes auteurs (27) n'en relève que 16 % et même 7 % environ avant l'âge de 2 ans.

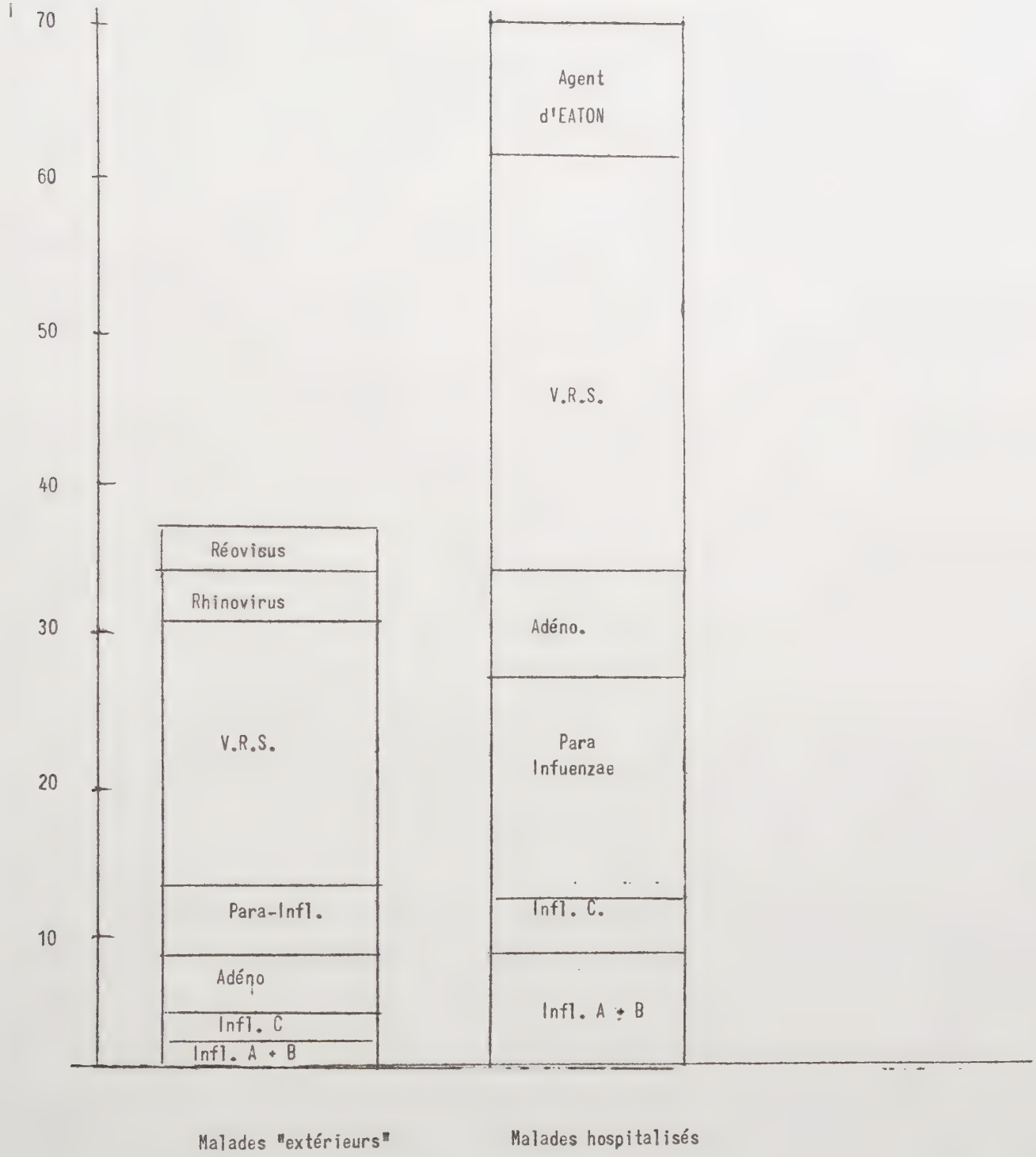
Pour résumer toutes ces considérations statistiques, nous emprunterons :

- d'une part à CHANOCK et Coll. (24) le tableau ci-après, montrant d'après plusieurs statistiques, la contribution des différents agents aux maladies respiratoires survenant dans l'enfance.

- d'autre part à HILLEMAN (67), une représentation synoptique, plus parlante à la vue, de l'importance relative qu'il attribue à ces différents agents chez l'enfant (cf. pages suivantes).

Agent	Lieu de l'étude	Dates	Etude faite par	Nb de malades étudiés	Pourcentages par infection avec l'agent indiqué				
					"Croup"	Bronchiolites	Pneumonies	Bronchites	Maladies des voies supres.
Para Influenza 1	Washington	1957-1962	Isol.	5.736	18	0,5	0,5	1	2,3
			Sérol.	1.758	18	1	3	4	-
	Melbourne	1959-60	Isol.	299	25	-	-	-	-
	Toronto	1960-63	Isol.	794	30	-	-	-	-
	Moscou	1959	Isol.	153	21				
Para Influenza 2	Washington	1957-1962	Isol.	5.736	6	0,2	0,2	0,6	0,4
			Sérol.	1.758	8	1	1	2	-
	Melbourne	1959-60	Isol.	299	6	-	-	-	-
	Toronto	1960-63	Isol.	794	0,5	-	-	-	-
	Moscou	1959	Isol.	153	5	-	-	-	-
Para Influenza 3	Washington	1957-1962	Isol.	5.736	6	3	1	3	3
			Sérol.	1.758	13	14	13	12	-
	Melbourne	1959-60	Isol.	299	7	-	-	-	-
	Toronto	1960-63	Isol.	794	3,5	-	-	-	-
Influenza A ou B	Washington	1957-62	Sérol.	1.758	8	1	5	1	-
Virus resp. syncytial	Washington	1959-61	Isol.	2.431	3	25	10	2	5
		1957-61	Sérol.	1.430	6	18	14	12	-
	Chicago	1958-59	Isol.	163	7	50	36	-	16
	Philadelphie	1959-60	Sérol.	563	9	38	39	27	14
	Melbourne	1961	Isol.	160	9	75	23	31	-
Adénovirus	Washington	1957-1961	Isol.	4.605	3	2	4	4	7
			Sérol.	1.366	9	5	7	8	-
	Chicago	1954-57	Isol.	1.053	-	-	-	-	3
Rhinovirus	Philadelphia	1959-60	Isol.	263	-	-	-	-	6
	Camp le Jeune	1961-62	Isol.	741	-	-	-	-	4
Mycoplasma Pneumoniae	Washington	1957-59	Sérol.	110	-	6	11	13	-
	Helsinki	1962-63	Sérol.	127	-	-	20	-	-

ROLE DE DIFFERENTS AGENTS DANS LES MALADIES RESPIRATOIRES DE L'ENFANT d'après CHANOCK R.M. (24)



Estimation de l'importance relative des agents des maladies respiratoires chez les enfants et les nourrissons (d'après HILLEMAN) (67).

III - ETUDE LOCALE

Notre étude n'a pu porter que sur des malades hospitalisés, atteints donc d'un syndrome clinique suffisamment sévère pour avoir nécessité un traitement hors du cadre familial.

Cette étude a porté sur des jeunes enfants hospitalisés dans le service de pédiatrie du Centre Hospitalier Universitaire de REIMS (Pr. Agr. M. FANDRE) et sur un seul des tableaux cliniques que nous avons décrits tout à l'heure : les bronchopneumopathies aiguës dyspnéisantes ou bronchiolites.

Du mois d'octobre 1964 au mois d'avril 1965, 78 nourrissons ont été ainsi examinés, ce qui représente environ 15 % du nombre total des malades entrant en Pédiatrie durant cette période.

Ces malades peuvent être répartis en trois catégories, d'importance à peu près égale, suivant l'âge :

- de 0 à 3 mois : 30 malades
- de 3 à 6 mois : 27 malades
- de 6 mois à 1 an : 21 malades.

Selon l'origine, on retrouve la proportion habituelle du service : 60 % des malades viennent de Reims, 40 % de la région (Marne, Aisne, Ardennes).

Enfin, la presque totalité des enfants est malade à l'entrée : 3 seulement ont contracté leur pneumopathie pendant leur séjour à l'hôpital. La clinique de l'affection est assez univoque.

En moyenne , l'enfant est malade depuis 2 jours et demi avant son hospitalisation . A domicile, où 3 fois sur 4 environ un membre de la famille est "enrhumé", le début a été assez volontiers apyrétique : on ne retrouve la fièvre que dans 25 cas (32 %).

Le premier signe est en règle générale une toux sèche, notée dans 7I cas (9I %). Puis apparaît une gène respiratoire qui va assez rapidement en s'accentuant. Cette dyspnée initiale est retrouvée dans 53 cas (69 %).

A l'examen, l'enfant se présente avec une altération de l'état général plus ou moins accusée, mais presque toujours présente.

Nous avons ainsi noté 20 cas où l'état général était très altéré, pouvant faire craindre une issue fatale (26 %), 27 cas où cette atteinte était moyennement marquée (34 %) et 3I cas où elle était beaucoup plus modérée (40 %).

La détresse respiratoire est toujours retrouvée : majeure dans 21 cas (26 %) elle était moyennement importante dans 33 cas (42 %) et modérée dans 24 cas (32 %).

Dès que cette dyspnée atteint une intensité moyenne elle s'accompagne d'un teint grisâtre avec cyanose. Cette cyanose est tantôt généralisée tout en restant modérée (7 cas = 9 %) tantôt limitée, péribuccale : 27 cas (34 %).

Cette dyspnée est une tachypnée inspiratoire avec tirage intercostal et aussi sus et sous-sternal, s'accompagnant parfois d'une respiration abdominale bruyante et d'un oedème pulmonaire fréquent extériorisé par le fait que l'enfant "mousse".

Nous avons retrouvé cet oedème pulmonaire : marqué dans 9 cas (11 %) modéré dans 22 cas (22%) et discret dans 25 cas (30 %).

L'auscultation pulmonaire n'a que peu de valeur diagnostic ou pronostic Elle s'est révélée variable d'un moment à l'autre et d'un cas à l'autre. Le plus souvent, il existe des râles diffus sous-crépitants ou des râles de bronchite. La respiration est parfois bloquée sans qu'on entende de bruits anormaux. De temps à autre on perçoit un foyer localisé, rarement objectivé par la radiologie.

Par contre, le retentissement cardio-vasculaire est retrouvé dans plus de la moitié des cas, traduit par une tachycardie et plus rarement par une hépatomégalie en général discrète (40 cas : 50 %). La tachycardie a plus de I50, mais toujours inférieure à 200 a été remarquée dans 32 cas -(4I %), elle restait entre 120 et 150 dans 24 cas (30 %).

L'hyperthermie existait dans un peu plus de la moitié des cas. Elle était 7 fois (9 %) supérieure à 39°C, 20 fois comprise en 38 et 39°C (26%) et 16 fois inférieure à 38°C (20%).

L'examen radiologique en radioscopie, plus parlante très souvent que la radiographie, a montré dans tous les cas des signes d'emphysème pulmonaire : très marqués avec poumons hyperclairs, côtes horizontales, jeu diaphragmatique réduit et mauvaise ventilation dans 20 cas (26 %), moyens dans 34 cas (44%) et modérés dans 24 cas (30 %). Des aspects de condensation n'étaient relevés par contre que dans 11 cas (14 %).

Ainsi peut-être résumée la clinique de ces observations de bronchiolites.

Ces enfants ont reçu un traitement consistant en :

- oxygénation sous tente,
- digitaline (II gouttes par 24 h en moyenne)
- gardénal (0,02 à 0,05 g selon l'âge et le poids)
- atropine parentérale et aspirine à la demande
- par ailleurs ils ont reçu une couverture antibiotique faite de pénicilline intra-musculaire (1 million d'unités par 24 heures).

L'évolution, malgré un tableau clinique initial parfois très alarmant, est dans la règle rapidement favorable, puisque nous n'avons eu à déplorer qu'un décès (1,3 %) par bronchiolite semble-t-il, encore que la vérification anatomique n'ait pu être faite.

En général, le syndrome respiratoire est resté sans changement pendant 1 à 3 jours, suivi d'une prompte amélioration. Cependant dans quelques cas, malgré une restauration de l'état général, un certain degré de dyspnée a persisté pendant 6 à 8 jours.

L'évolution sans aucune complication a été constatée dans 34 cas (44%) et l'hospitalisation a été alors en moyenne de 6,4 jours. Parmi les cas avec complications, ce sont les otites qui en forment le plus gros contingent : 30 cas (39 %). Il ne s'agit pas de contaminations hospitalières, car la

presque totalité a été dépistée et paracentésée le jour même de l'entrée. La durée moyenne d'hospitalisation a dans ce groupe été plus élevée : I0,5 jours.

Les diarrhées infectieuses à Colibacilles ont été rares : 4 cas (5 %) mais les associations d'otites et de diarrhées à Colibacilles, où la surinfection hospitalière joue très souvent un rôle, ont été plus fréquentes : 9 cas (11%). Dans ce groupe la durée d'hospitalisation a été beaucoup plus prolongée : elle atteint une moyenne de 26,2 jours.

Aucune séquelle encéphalitique ou rénale n'a été constatée.

Les examens de laboratoire avec étude virologique selon les méthodes et techniques que nous avons exposées au chapitre II ont été réalisés en suivant notre programme idéal de façon aussi étroite que possible.

- 76 prélèvements de gorge (sur 78 cas) ont été pratiqués, tous dans les 36 premières heures,
- 69 prélèvements de selles dans les mêmes conditions,
- 73 sérologies précoces (prélevées dans les 48 premières heures du séjout)
- 47 sérologies tardives (prélevées en moyenne au IIe jour après l'entrée, soit au I4e jour de la maladie).

RESULTATS

Dans un cas, la sérologie précoce était positive (Réo 1/10) au même taux que la sérologie tardive, alors que les prélèvements de gorge et de selles étaient négatifs.

Dans tous les autres cas la sérologie précoce a été trouvée négative aux taux de dépistage utilisé (1/10e).

Dans 3I cas (40 %) tout était négatif : prélèvements et sérologies.

Dans 47 cas (60 %) on notait soit un virus isolé de la gorge, soit un virus isolé des selles, soit une sérologie tardive positive, soit deux de ces trois éléments chez un même malade.

Dans le même temps, nous avons testé comme témoins 30 nourrissons atteints de maladies diverses mais non respiratoires. Trois fois seulement un élément fut positif : deux isolements viraux et une sérologie tardive faiblement positive.

Nous indiquons dans le tableau ci-après le résultat de ces examens où un élément biologique au moins est positif.

NOM	GORGE	SELLES	Séro-tardiv.	NOM	GORGE	SELLES	Séro-tardiv.
3	VRS	0	0	45	VRS	0	Para II 1/10
4	0	0	Réo 1/20	46	0	0	VRS 1/10
5	0	Réo 1	0	49	0	Adéno	0
7	Para III	Adéno	0	50	0	Adéno	0
10	0	Adéno	0	51	VRS	0	0
11	Adéno	0	0	52	VRS	0	0
12	0	Réo 1	0	55	VRS	0	0
13	VRS	0	0	56	0	Adéno	0
16	0	Réo 1	0	58	Adéno	Adéno	0
22	Réo 1	0	0	59	0	0	Réo 1/10
25	0	0	VRS 1/20	60	VRS	0	0
26	VRS	0	0	61	0	Adéno	0
27	0	0	VRS 1/10	62	VRS	0	Réo 1/10
29	0	Polio 1	VRS 1/10	63	VRS	0	0
30	0	Réo 1	VRS 1/10	64	0	0	Réo 1/10
31	0	0	VRS 1/10	65	Adéno	0	0
32	VRS	0	0	66	Herpès	0	0
35	VRS	0	0	68	0	Adéno	0
36	VRS	0	0	69	Réo 1	Réo 1	0
38	VRS	0	0	70	Réo 1	0	0
39	VRS	0	0	72	0	0	Adéno 1/20
40	Adéno	Adéno	0	73	VRS	Adéno	0
42	VRS	Réo 1	0	76	0	Entéro non polio	0
44	0	Réo 1	0				

Tableau des résultats de virologie positive

Si nous considérons uniquement les isolements de virus, les chiffres sont les suivants : dans 67 cas les prélèvements ont été faits dans la gorge et les selles, dans 9 cas dans la gorge seule, dans 2 cas dans les selles seules : soit 78 au total.

Dans 39 cas un ou deux virus ont été isolés. Il nous faut exclure un virus Polio I et un virus herpétique qui ne peuvent jouer de rôle dans les bronchiolites. Il reste donc 37 isolements viraux (47,4 %).

Dans la gorge furent isolés 17 V.R.S., 4 adénovirus, 3 réovirus I, un para-influenzae III.

Le total est donc de 25 virus isolés pour 76 prélèvements soit 33 % de prélèvements de gorge positifs.

Dans les selles furent isolés I0 adénovirus, 7 réovirus I , un entérovirus non poliomyélitique. Le total est donc de I9 virus isolés pour 69 prélèvements, soit 26 % de prélèvements de selles positifs.

La sérologie tardive fut 12 fois positive, toujours à des taux faibles. Ceci réalise pour 47 sérologies tardives 25,5 % des résultats faiblement positifs.

Dans six cas, l'isolement viral fut possible à la fois dans la gorge et dans les selles : 3 fois le même virus est retrouvé, 3 fois il s'agit de virus différents. Au total donc dans un peu moins de 60 % des cas un virus fut isolé ou une sérologie tardive faiblement positive il est vrai, mise en évidence.

Ces chiffres sont comparables à la plupart de ceux des publications américaines.

Dans notre série de Bronchiolites le virus le plus fréquemment isolé fut le VRS = I7 fois sur 76 prélèvements (22,4 %) alors qu'une sérologie tardive positive pour ce virus était relevée 6 fois sur 47 examens (13 %) soit au total 35,4 % des cas où ce virus pouvait être incriminé.

Les adénovirus sont également souvent trouvés : 12 fois à l'isolement soit à partir des selles ou de la gorge ou des 2 à la fois (5,3 % des cas dans la gorge - 14 % dans les selles) tandis qu'on notait une seule fois une sérologie tardive positive.

Un virus para-influenzae II a été isolé d'un prélèvement de gorge et une sérologie tardive a été positive pour para-influenzae II.

Par contre nous avons isolé 7 fois un Réovirus et assisté 3 fois à une montée des anticorps pour ce virus. C'est la première fois pensons-nous qu'il apparaît tentant de faire une relation de cause à effet entre Réovirus et bronchiolite du nourrisson.

Peut-on , malgré les résultats décevants de nos examens de sérologie tardive, et que nous avons expliqué au cours du deuxième chapitre, par la trop grande précocité du prélèvement, affirmer que les virus identifiés sont bien responsables des bronchiolites ?

En reprenant les critères proposés par WARD et GELFAND exposés antérieurement nous constatons :

- que le tableau clinique était suffisamment caractéristique et uniforme,
- que les isolements ont permis de retrouver plusieurs types viraux avec une fréquence appréciable,
- que dans le groupe témoin : la virologie n'a été positive que 3 fois sur 30 témoins testés (10 %) au lieu des 60 % dans les bronchiolites.
- qu'enfin la montée des anticorps homologues nous faisait totalement défaut car nous avons manqué de sérums tardifs au 21e ou 30e jour comme le conseillent BEEM (6) et BERKOVICH (11).

De ce fait donc nous ne pouvons apporter de preuve absolue, mais simplement de fortes présomptions que les agents viraux isolés étaient très vraisemblablement à l'origine des bronchiolites étudiées.

IV - A la suite de cette étude, il nous a paru tentant d'essayer de voir si à un virus donné pouvait correspondre un tableau clinique particulier, légèrement différent pour chaque virus. Nous nous y sommes donc essayés, sans grands espoirs néanmoins car la majorité des auteurs ont conclu dans ce domaine à une impossibilité .

Sur nos 47 cas à résultats positifs, nous écartons les trois cas où 2 virus différents ont été isolés ; nous écartons encore les trois cas où la montée des anticorps ne correspond pas au virus isolé ; nous écartons enfin le virus herpétique et l'entérovirus non poliomyélitique qui n'a pu être typé.

Il nous reste 39 cas à résultats positifs qui peuvent se répartir en 3 groupes :

1 - V.R.S. : I8 cas (13 isolements et 5 sérologies tardives)

2 - Adénovirus : 11 cas (10 isolements et 1 sérologie tardive)

3 - Réovirus 1 = 10 cas (7 isolements et 3 sérologies tardives)

A ces trois groupes, on peut comparer un quatrième = les 31 cas avec résultats négatifs.

Nous résumons en 3 tableaux les données statistiques :

- générales (Tableau 1)
- cliniques (tableau 2)
- sur l'évolution (tableau 3)

que nous avons indiquées antérieurement, en comparant les 4 groupes que nous venons de définir.

Les chiffres de ces trois tableaux sont exprimés en pourcentage, sauf les durées moyennes d'hospitalisation qui sont exprimées en jours.

Tableau 1 : Généralités (en %)

	Négatif	VRS	Adéno	Réo 1
Originaire de Reims	55	55	100	50
Originaire de région	45	45	0	50
0-3 mois	48	22	18	40
3-6 mois	16	39	46	20
6-12 mois	36	39	36	40

	FORT				MOYEN				FAIBLE				TOTAL			
	NEG	VRS	ADEN	REOI	NEG	VRS	ADEN	REOI	NEG	VRS	ADEN	REOI	NEG	VRS	ADENO	REO I
1 - Altération E.G.	22	22	18	30	34	33	27	30	34	45	55	40	90	100	100	100
2 - Détresse respiratoire	26	22	18	30	42	45	27	50	32	33	55	20	100	100	100	100
3 - Oedème pulmonaire	13	0	9	30	26	39	9	30	35	16	36	30	74	55	54	90
4 - Cyanose	0	0	0	0	10	0	9	0	32	50	9	30	42	50	18	30
5 - Tachycardie	0	0	0	0	39	39	9	50	35	33	27	20	74	72	36	70
6 - Hyperthermie	10	0	0	10	19	22	54	30	13	44	9	20	42	66	63	60
7 - Hépatomégalie	0	0	0	10	32	28	18	20	19	33	9	30	51	61	27	60
8 - Emphysème	26	28	9	40	39	44	55	40	35	28	36	20	100	100	100	100
9 - Condensation													19	0	18	0

Tableau 2 - Principaux signes cliniques et radiologiques (voir le texte pour les explications)

	Pourcentage				Durée Moyenne Hospitalisation			
	NEG	VRS	ADENO	REO I	NEG	VRS	ADENO	REO I
Sans complication	52	44,4	27	40	5,6	6,25	8	7,25
Otite	32	44,5	55	40	11,6	11,25	6,66	11,25
Coli	6,5	5,5	9	0	13	14	9	
Otite + Coli	6,6	5,5	9	20	20	80	17	17,5
Décès par bronchiolite	3	0	0	0	2			
Décès par surinfection	0	0	0	0				

Tableau 3 : Evolution

L'étude de ces trois tableaux montre d'emblée que les différences entre les 4 groupes sont extrêmement minces.

Les quelques points à noter sont les suivants :

- Alors que les enfants sont généralement originaires moitié de Reims et moitié de la région, dans le groupe des Adénovirus les onze cas sont originaires de Reims. Il est difficile d'apprécier la valeur de cette particularité.

- Dans le groupe des Adénovirus également (tableau 2) on remarque que le retentissement cardio-vasculaire (tachycardie et hépatomégalie) est deux fois plus rare que dans les autres groupes (36 et 27% au lieu de 70 et 60 %). Bien entendu le nombre de cas est beaucoup trop limité pour que ces différences soient statistiquement valables. Mais ce point mériterait peut-être d'être étudié dans l'avenir.

- La dernière particularité que nous signalerons est, dans le groupe des Réovirus, la quasi-constance de l'oedème pulmonaire = 90 % au lieu de 54, 55 et 74 % . Ce point néanmoins nous semble peu significatif.

Au total donc nous ne pouvons retenir rien de bien significatif . Il serait bien sûr très séduisant de parvenir à un diagnostic clinique de bron chiolite à VRS, à Adénovirus, ou à un autre agent mais de toutes façons la possibilité ou l'impossibilité de trouver une correspondance ne pourraient être reconnues que sur des études très rigoureuses et à très vaste échelle, et il semble bien à l'heure actuelle que ce ne sera sans doute jamais possible, du fait du mode de réaction assez univoque du tractus respiratoire, aux différents agents viraux, comme le soulignent de très nombreux auteurs dans la plupart de leurs publications.

oOo

CONCLUSION

La fréquence des bronchopneumopathies non bactériennes en général et leur incidence élevée chez le jeune enfant en particulier nous ont incité, à propos de 78 cas de bronchiolites aiguës du nourrisson que nous avons pu étudier sur le plan clinique et virologique, à essayer de faire le point de nos connaissances actuelles sur ces affections .

Une brève étude des agents paraissant les plus fréquemment mis en cause a d'abord été effectué pour appuyer l'exposé des recherches pratiques de laboratoire qui ont été faites sur une meilleure connaissance de notre part des principaux caractères de ces agents.

De même, nous avons essayé de schématiser en quelques tableaux cliniques ce domaine très vaste et bien souvent vague des pneumopathies "virales" pour mieux situer le cadre des bronchiolites que nous avons étudiées.

La déception que nous a fourni le résultat de l'étude de nos sérologies tardives au 11e-13e jour nous a amené désormais chez le nourrisson et le jeune enfant à étudier dans toute la mesure du possible des sérums prélevés entre le 21e et le 30e jour qui semblent déjà nous donner de meilleurs résultats; il est encore malheureusement trop tôt pour en faire état.

Néanmoins, malgré le cadre limité de notre étude, il nous a semblé qu'il était possible d'établir avec de fortes probabilités le diagnostic étiologique dans environ 60 % des cas de maladies respiratoires non bactériennes

primitives chez le nourrisson; à la seule condition d'une coopération étroite entre cliniciens et biologistes.

Le virus qui nous a paru être le plus souvent en cause dans ce cadre défini est la V.R.S.

Nos efforts doivent tendre à améliorer ce pourcentage de réussite et à rendre nos résultats plus probants par amélioration de l'application de nos techniques et par de nouvelles recherches comme par exemple, celle de Mycoplasma Pneumoniae : nous avons signalé la mise en oeuvre récente de sa culture sur milieux spéciaux et de techniques sérologiques spécifiques de cet agent. Si là aussi nous ne pouvons encore faire état de résultats statistiques significatifs, nous espérons qu'il en sera autrement dans un prochain avenir.

En effet, comme l'ont montré avant nous et de façon plus significative les très nombreuses études étrangères, en particulier celles de l'équipe de CHANOCK la clinique ne permet aucune approche du diagnostic étiologique. L'arbre respiratoire semble en effet n'avoir qu'un nombre limité de modes de réactions aux différentes agressions qu'il subit : si bien que très nombreux agents aboutissent à l'extériorisation de syndromes cliniques semblables.

Les études de laboratoire, seules, peuvent donc permettre d'envisager une meilleure connaissance étiologique et épidémiologique de ce groupe d'affections.

C'est pourquoi il importe que ces études se multiplient si l'on veut pouvoir dans l'avenir diminuer leur fréquence par des vaccinations. Mais il est de toute évidence qu'on ne peut envisager une protection active par l'introduction dans l'organisme d'un tel nombre d'antigènes. Or à l'heure actuelle il est bien difficile de faire un tri parmi tous ces agents, pour préparer puis tester des vaccins, sans être réellement informé sur l'importance et la fréquence de nombre de ces agents. Seules, donc, les études de laboratoire pourront permettre ces informations, pourront prouver l'existence de relations antigé-

niques éventuelles et permettront de passer à l'expérimentation de vaccins permettant une prévention aussi efficiente que possible d'un maximum d'affections respiratoires virales. C'est, comme le souligne MEIKLEJOHN (102) "un problème complexe, difficile, mais fascinant, et certainement néanmoins soluble".

oOo

Vu, le Président de Thèse :

M. TOURNIER

Vu, le Doyen de la Faculté :

M. G. BROUET

Vu et permis d'imprimer

le Recteur de l'Académie de Paris

M. J. ROCHE

BIBLIOGRAPHIE

1 - ANDREWES C.H.-

The complex epidemiology of respiratory virus infections
Science (1964) 146. 3649. 1274.

2 - ARMSTRONG J.A., PEREIRA H.G. VALENTINE R.C.-

Morphology and growth of RVS in cells cultures.
Nature (1962) 22. II79.

3 - BAERNSTEIN H.D. TREVISANI E. AXTELL S. QUILLIGAN J.J.-

Mycoplasma Pneumoniae (EATON atypical pneumonia agent) in children respiratory infections.
J. of Ped. (1965) 66.5.829.

4 - BEEM M. WRIGHT F.H.-

Association of the chimpanzee coryza agent with acute respiratory disease in children.
New Engl. J. Med. (I960) 263.523.

5 - BEEM M. WRIGHT F.H.-

Observation of the etiology of acute bronchiolitis in infants
J. of Ped. (1962) 61. 862.

6 - BEEM M. EGERER R. ANDERSON J.-

Respiratory syncycial virus neutralizing antibodies in person residing in Chicago. Illinois.
Pediatrics (1964) 34.6.76I.

7 - BEJOT J.-

Les affections virales en pathologie respiratoire.
Gaz. Méd. de Fr. (1963) 3067.

8 - BENNETT C.R. Jr HAMRE D.-

Growth and serological characteristics of R.S. Virus.
J. Infect. Dis. (1962) 110.8.

9 - BELL J.A. ROWE W.P. ROSEN L.

Adenoviruses.
Amer. J. publ. Hlth. 52.902 (1962)

10 - BENYESH H. MELNICK M. ROSENBERG H.S.-

The isolation of adenovirus type 7 from a fatal case of pneumonia and disseminated disease.
J. of Ped. (1964) 64.1.83.

11 - BERKOVICH S. TARANKO L.-

Acute respiratory illness in the premature nursery associated with respiratory syncytial virus infections.
Pediatrics (1964) 34.6.753.

12 - BRETON A. GAUDIER B. PONTE C. SAMAILLE J.-
Les bronchopneumopathies à virus de l'enfant.
18e congrès Ass. Péd. Lang. Fse
Genève (1961) vol. 3 P. 106.

13 - BRETON A. SAMAILLE J. GAUDIER B. LEFEBVRE G. PONTE C.

Isolement du virus respiratoire syncytial (virus CCA de MORRIS) au cours de manifestations respiratoires bénignes chez les prématurés.
Arch. Fses. Péd. (1961) 18.459.

14 - BRETON A., GAUDIER B. SAMAILLE J. PONTE C. LELONG M.-

Infections à virus des voies respiratoires chez le nourrisson.
Arch. Fses. Péd. (1961) 18.859.

15 - BRICOUT F. REGNARD J. DUVAL J.-

Pouvoir pathogène et diffusion des Réovirus.
Ann. Péd. (1965) 41.1.43.

16 - CARL F.T. MATTERN.-

Properties of Coxsackieviruses
Virology (1962) 17.520.

17 - CATEIGNE G.H.-

Caractéristiques et étude antigénique du virus grippal
Path. Biol. (1960) 8.2.2071.

18 - CATEIGNE G.H. LEPINE P.

La Grippe
in P. LEPINE : Techniques de laboratoire en virologie humaine. Masson éd. 54I.

19 - CHANOCK R.M. PARROT R.H. JOHNSON K.M. KAPIKIAN A.Z. BELL J.A.

Myxoviruses parainfluenzae
Amer. Rev. Resp. Dis. (1963) 88.3.I52.

20 - CHANOCK R.M.

Association of a new type of cytopathogenic myxovirus with infantile croup.
J. Exp. Med. (1956) 104.555.

21 - CHANOCK R.M. PARROT R.H. COOK M.K. ANDREWS B.E. BELL J.A. KAPIKIAN A.Z.-

Newly recognized myxoviruses from children with respiratory disease.
New Engl. J. Med.(1958) .207.

22 - CHANOCK R.M. ROIZMAN B. MYERS R.-

Recovery from infants with respiratory illness of a virus related to chimpanzee coryza agent (CCA);
I) Isolation. Properties and charactérisation.
Amer. J. Hyg. (1957) 66.28I.

23 - CHANOCK R.M. FINBERG L.-

II) Epidemiologic aspects of infection in infants ans small children
Amer. J. Hyg. (1957) 66.29I.

24 - CHANOCK R.M. MUFSON M.A. JOHNSON K.M.-

Comparative biology and ecology of human virus and mycoplasma respiratory pathogens.
Prog. Med. Vir. (1965) 7.208. Karger Bâle/N.Y.

25 - CHANOCK R.M., MUFSON M.A. BLOOM H.A. KINGSTON M.C.

EATON Agent Pneumonia.
J.A.M.A. (1961) 175.3.213.

26 - CHANOCK R.M. HAYFLICK L. BARILE M.F.-

Growth on artificial medium of an agent associated with atypical pneumonia and its identification as a PPLO.
Proc. Nat. Acad. Sci. (1962) 48.41.

27 - CHANOCK R.M. MUFSON M.A. SOMERSON N.L. COUGH R.R.-

Rôle of mycoplasma (PPLO) in human respiratory disease.
Amer. Rev. Resp. Dis. (1963) 88.3.218.

28 - CHANY C.-

Severe and fatal pneumonia in infants and young children associated with adenovirus infections.
Amer. J. Hyg. (1963) 67.367.

29 - CHANY C.-

Infections à adénovirus chez l'enfant.
Arch. Ges. Virusforsch (I963) 13.294.

30 - CHAUVET M.-

Pneumonies à virus et pneumonies atypiques.
Schweiz. Med. Wechr. (I965) 95.6.I85.

31 - COURY C.-

a - La grippe et ses complications respiratoires.
b - les pneumopathies aiguës non tuberculeuses, virales et bactériennes.
Rev. du Prat. (1964) 14.10.1195.

32 - COUVREUR J. CHANY C. FALCOFF E. GERBEAUX J.-

Une épidémie d'infections respiratoires associée au virus CCA de MORRIS dans une collectivité d'enfants.
Bull. Mém. Soc. Hôp. Paris (1964) 115.15.1299.

33 - CRAMBLETT H.G.-

Viral respiratory illnesses of infants and children.
Bacter . Rev. (1964) 28.4.43I.

34 - CRAMBLETT H.G. ROSEN L. PARROT R.H. BELL J.A. HUEBNER R.J. MAC CULLOUGH N.B.-

ECHO-viruses associated with respiratory disease in children.
Amer. J. Dis. Child. (1957) 94.407.

35 - CRONE P.B. HEYCOCK J.B. NOBLE T.C. PATTON J.B.-

Serological evidence of infection by respiratory syncytial virus in outbreak of acute bronchiolitis.
Brit. Med. J. (1964) 5397.

36 - Committee on the ECHO- viruses

Science (1955) 122.II87.

37 - DAVIS S.D. WEDGWOOD R.J.-

Antibiotics prophylaxis in acute viral respiratory diseases
Amer. J. Dis. Child. (I965) 109. 6. 544.

38 - DISNEY M.E. SANDIFORD B.R. CRAGG J. WOLFF J.

Epidemic bronchiolitis in infants.
Brit. Med. J. (1960) I. I407

39 - DOMART A. NENNA A. MODAI J.-

L'Ornithose
Rev. du Prat. (1964) 14.9.1133.

40 - DROUHET V.-

Réo-virus (ECHO 10) Effet cytopathogène
Ann. Inst. Past. (1958) 95.78I.

4I - DROUHET V.-

Réo-virus (ECHO 10). Anticorps fluorescents et étude cytochimique.
Ann. Inst. Past. (I960) 98. 6I8

42 - DOWLING H.F. LEFKOWITZ L.B.-

Clinical syndromes in adults caused by respiratory viruses.
Amer. Rev. Resp. Dis. (1963) 88.3.6I.

43 - DUGDALE A.E. MAC GEORGE M.-

Bronchiolitis in infancy
New Zeal. Med. J. (1960) 59. 227

44 - DUMAS J.-

Le genre Rickettsia
in Bactériologie J. DUMAS Flammarion .857.

45 - EATON M.D. MEIKLEJOHN G. VAN HERRICK W.-

Studies on the etiology of primary atypical pneumonia
A filterable agent transmissible to cotton-rats, hamsters and chick embryo.
J. Exptl. Med. (1944) 79. 649.

46 - EATON M.D.-

Action of aureomycin and chloromycetin on the viruses of primary atypical pneumonia
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med (I950) 73.34

47 - EDWARD D.G.-

A selective medium for pleuropneumonia like organisms
J. Gen . Microbiol. (1947) I. 238.

48 - ENDERS J.F. BELL J.A. DINGLE J.H. FRANCIS T. HILLEMAN M.R. HUEBNER R.J. PAYNE A.M.N.

"Adenovirus" : group name proposed for new respiratory tract viruses.
Science (1956) 124.II9.

49 - EVANS A.S.-

Adenovirus infection in children and young adults with comments on vaccination
New Engl. J. Med. (I96I) 265.4OI.

50 - FANDRE M. DROPSY G. COFFI N R. PENNAFORTE F. BOCHET J.
a - Epidémie de bronchiolitès aiguë du nourrisson
Isolement d'un virus respiratoire syncytial
Arch. Fses Péd. (1964) 21.10.1189
b - Les bronchiolites aiguës du nourrisson
(à paraitre.)

5I - FLORMAN A.L.-

Some newly described viruses and diseases associated with them.
J. of Ped. (I96I) 58.2.286.

52 - FOLIGUET J.M.-

Les Rickettsioses en milieu rural.
Gaz. Med. de Fr. (I964) 65I

53 - FORBES J.A., BENNET N. GRAY N.J.-

Epidemic bronchiolitis caused by a respiratory syncytial virus : clinical aspects.
J. Aust. Med. (I961) 2.933.

54 - FREEMAN G.L., TODD R.D.-

The role of allergy in viral respiratory tract infections.
Amer. J. Dis. Child. (I962) 104. 4. 330.

55 - GALY P. ROUMAGNOUX J.-

Des syndromes d'allure grippale sans modification broncho-pulmonaires aux bronchopneumopathies non condensantes saisonnières.
Rev. du Prat. (I964) 14.10.1211.

56 - GARDNER P.S., ELDERKIN F.M. WALL A.H.-

Serological study of respiratory syncytial virus infections in infancy and children.
Brit. med. J. (1964) 5424, I57O.

57 - GARROW D.H.-

Acute respiratory infectuons in childhood.
Brit. Med. J. (I965) 5430.297.

58 - GELFAND H.M.-

The occurence in nature of the Coxsackie and ECHO-VIRUSES
Prog. Med. Virol. (I96I) 3.I93.

59 - GERNEZ RIEUX C. BRETON A. SAMAILLE J. VOISIN C. LELONG M.-

Enquête sur la fréquence des infections virales au cours des maladies respiratoires aiguës de l'enfant.
Arch. Ges. Virusforsch (1963) 13.310.

60 - GINSBERG H.S.-

Identification and classification of adenoviruses
Virology (1962) I8.312.

6I - GIROUD P. CAPPONI M.-

Le diagnostic des Rickettsioses.
in H.R. OLIVIER "Traité de biologie appliquée"
PARIS (1963) p. 432.

62 - GIROUD P. CAPPONI M. -

La fièvre Q (Maladie de DERRICK et BURNET)
Flammarion Ed. Paris (I966)

63 - HAMRE D. PROCKNOW J.J.-

Virologie studies on common cold among young adult medical students.
Amer. Rev. Resp. Dis. (I963) 88.3.277.

64 - HAMRE D. CONNELLY A.P. PROCKNOW J.J.-

Virologic studies of acute respiratory diseases in young adults. Some biologic and serologie charactéristics of seventeen rhinovirus serotypes isolated oct. I960 to june 6I.
J. Lab. Chir. Med. (1964) 64.3.450.

65 - HAYFLICK L. CHANOCK R.M.-

Mycoplasma species of man.
Bacter. Rev. (I965) 29.2.I85.

66 - HEYCOCK J.B. NOBLE T.C.-

1230 cases of acute bronchiolitis in infancy
Brit. Med. J. (I962) 5.3O9.879.

67 - HILLEMAN M.R.-

Respiratory Syncytial Virus.
Amer. Rev. Resp. Dis. (I963) 88.3.I67.

68 - HITCHCOCK G. TYRRELL D.A.J.-

Some virus isolations from common colds. Virus interference in tissues cultures.
Lancet (I960) I.237.

69 - HAMPARIAN V.V. KETLER A. HILLEMAN M.R.-

The ECHO 28-Rhino-virus-Coryzavirus (E.R.C.) group of ciruses.
Amer. Rev. Resp. Dis. (I963) 88.3.269.

70 - HOLZEL A. and Coll.-

The isolation of respiratory syncytial virus from children with acute respiratory disease.
Lancet (1963) 276.7.295.

7I - HORNE R.W. WATERSON A.P. WILDY P. FARNHAM H.E.

The structure and composition of Myxoviruses
Virology (1960) II.79.

72 - HORSTMANN D.M. HSIUNG G.H.

Myxovirus infection and respiratory illness in children
Clinic. Ped. (I963) 2.7.378.

73 - HORNSLETH A. VOLKERT M.-

The incidence of complement fixing antibodies to the respiratory syncytial virus in sera from Danish population group aged 0-I9 years.
Acta Path. Microb. Scand. (I964) 62.3.421.

74 - HOLZEL A. and Coll.

Virus isolations from throats of children admitted to hospital with respiratory and other diseases, Manchester I964.
Brit. Med. J. (I965) 5435.6I4.

75 - HUEBNER R.J.-

Viral respiratory diseases in the Americas.
Amer. Rev. Resp. Dis. (I963) 88.3.I.

76 - JACKSON G.G.-

Understanding of viral respiratory illnesses provided by experiments in volunteers.
Bacter. Rev. (I964) 28.4.423.

77 - JAWETZ MELNICK

Medical Microbiology p. 222-224. P. 275-280 p. 363-369
p. 376-379. p. 40I-403.

78 - JEN K.F. LIN Y.C. RAL Y. T'AO S.C.-

A study on the interfering effect of asian influenzae virus on type 3 and type 7 adenoviruses
Clin. Med. J. (I963) 82.I8.

79 - JEUNE M. SOHIER R. BERAUD C. BETHENOD M. NIVELON J.L.-

Les aspects radiologiques des bronchopneumopathies virales de l'enfant.
I8e Congrès Ass. Péd. Lgue Fse Genève I96I
vol. 3 p. I7O Karger Bâle New-York.

80 - JOHNSON K.M. BLOOM H.H. FORSYTH B. MUFSON M.A. WEBB P.A. CHANOCK R.M.

The rôle of entéro-viruses in respiratory diseases.
Amer. Rev. Resp. Dis (I963) 88.3.240.

8I - JORDAN J.R. WILLIAM S.

Growth charácteristics of R.S. Virus
J. Immun (I962) 88, 58I.

82 - Journées Médicales de LAENNEC (I963)

Notions nouvelles sur les Pneumopathies à virus.
Rev. Tuber. Pneumol. (I963) 27.7.7I3.

83 - KAPIKIAN A.Z. CHANOCK R.M. BELL J.A. REICHELDERFER T.E. HUEBNER J.R.-

A study of the hemadsorption viruses (Parainfluenzae) and other viruses in children with and whithout respiratory disease.
Pediatrics (I960) 26.243.

84 - KAPIKIAN A.Z. JOHNSON K.M. CHANOCK R.M. BELL J.A.- DYKE L.M. ILER R.E.-

A pilot study of acute respiratory illnesses on a college campus.
Amer. Rev. Resp. Dis. (I964) 90.2.I75.

85 - KETLER A. HAMPARIAN V.V. HILLEMAN M.R.-

Characterisation and classification of the ECHO 28-rhinovirus coryzavirus agents.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (I962) II0.821.

86 - KINGSTON M.C. CHANOCK R.M. MUFSON M.C.-

EATON agent pneumonia.
J.A.M.A. (I96I) I76.2.II8.

87 - KJERSGAARD R. LINDBOM G. DINTER Z. PHILIPSON L.-

The aetiology of respiratory tract infections in military personnel. The recovery tract infections in military personnel. The recovery of ECHO 28 from cases with minor respiratory illness.
Acta Path. Microb. Scand. (I963) 59.527.

88 - KNIGHT V. GEROME P.J. GRIFFI TH W.R. COUGH R.B. CATE T.R. JOHNSON K.M. LANG D.J.-

Studies in volunteers with respiratory viral agents.
Amer. Rev. Resp. Dis. (I963) 88.3.I35.

89 - KRAVETZ H.M. KNIGHT V. CHANOCK R.M. MORRIS J.A.- JOHNSON K.M. RIFKIND D. UTZ J.P.-

Respiratory syncytial virus
J.A.M.A. (I96I) I76.657.

90 - LAMY M. FREZAL J. COHEN SOLAL J.-

Pneumopathie chronique associée à une infection par adénovirus
Arch. Fses Ped. (I963) 20. 612.

9I - DE LAVERGNE E. OLIVE D. LE MOYNE M. Th.

Les Réovirus
La Presse Med. (I965) 17.95I.

92 - LEE NEMIR R.L. and Coll.-

Adénovirus complement fixing antibodies titers from birth through the first year of life . A longitudinal study.
Pediatrics (I963) 32.4.497.

93 - LE REST F.P. GERMONTY J. MAILS M. DELPY J. TESSIER J.P.-

Les viroses respiratoires communes. Etude sérologique, clinique, radiologique et épidémiologique de 336 observations.
Poumon et Coeur (1964) 20.8.829.

94 - LERNER A. CHERRY J. KLEIN J. FINLAND M.-

Infections with Reoviruses.
New England Med. J. (I962) 267.947.

95 - LEWIS F.A. and Coll.

A syncytial virus associated with epidemic disease of the lower respiratory tract in infants and young children.
Med. J. Aust. (I96I) 2. 932.

96 - LIANE E. JORDAN and HEATHER DONALD MAYOR.-

The fine structure of Reovirus. A new member of the icosahedral series.
Virology (I962) 17.597.

97 - LIEBHABER H. JOHNSON K.-

A plaque assay for a new group of viruses associated with respiratory disease in humans.
J. Of Ped. (I963) 63.4.726.

98 - MAC DONALD J.E.

The importance of respiratory viral diseases in Western Europe.
Amer. Rev. Resp. Dis. (I963) 88.3.35.

99 - MARMION B.P. HERS J.F.-

Observations on EATON primary atypical pneumonia. Agent and analogous problems in animals.
Amer. Rev. Resp. Dis. (I963) 88.3.I98.

100 - MARQUEZY R.A. BACH C.-

Les formes sévères de viroses A.P.C. chez l'enfant.
Ann. de Péd. (I960) 34.I216.

101 - MAURIN J.-

Les entérovirus non poliomyélitiques.
in LEPINE P. "Techniques de laboratoire en virologie humaine" Masson Ed. (I964) p. 528.

102 - MEIKLEJOHN G.-

Present and future of inactivated virus vaccines
Amer. Rev. Resp. Dis. (I963) 88.3.372.

103 - MOOS and Coll.

Serological studies with respiratory syncytial virus.
Lancet (I963) 7 . 298.

104 - MORRIS J.A. BLOUNT R.E. SAVAGE R.E.-

Recovery of cytopathogenic agent from chimpanzees with coryza.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (I956) 92.544.

105 - MOSLEY V.M. WYCKOFF R.W.G.-

Electron micrography of the virus of influenzae
Nature (I946) I57.263.

106 - MOULDER J.W.-

The psittacosis group as bacteria
J.WILEY and Sons Ed. New York -(I964)

107 - NEIMANN N. de LAVERGNE E. PIERSON M. GILGENKTANTZ S.-
WORMS A.M. LORRAIN J.-

Les infections à virus ECHO.
Pediatrics (I964) I9.8.85.

108 - NEIMANN and Coll.

A propos des cas d'infections à Adénovirus observés en Lorraine.
Pediatrics (I965) 20.I.I5.

109 - NELSON W.E.-

Textbook of Pediatrics.
8e éd. (I964) p. 803 et 849

110 - PACCAUD R.H.-

Immunologie, épidémiologie et importance relative des viroses du tractus respiratoire.
I8e congr. Ped. Lgue. Fse. Genève (I96I) 3.I5.63.

111 - PARROT R.H.-

The clinical importance of group A Coxsackies viruses.
Bull. N.Y. Acad. Sci. (I957) 67.230.

112 - PARROT R.H. and Cbll.-

Respiratory syncytial virus.
J.A.M.A. (I96I) I76.653.

113 - PARROT R.H. VARGOSKO A.J. HYUM WHA KIM CHANOCK RM.-

Clinical syndromes among children caused by respiratory viruses.
Amer. Rev. Resp. Dis. (I963) 88.3.73.

114 - PEQUIGNOT H. ETIENNE J.P.-

Les Rickettsioses observées en France.
Rev. du Prat. (I964) 14.9.III7.

115 - PEREIRA M.S. PEREIRA H.G.-

Coë-virus : properties and prevalence in Great Britain.
Lancet (I959) 2.539.

116 - PEIRERA H.G. HUEBNER R.J. GINSBERG H.S. VAN DER VEEN J.-

A short description of Adenovirusgroup.
Virology (I963) 20.613.

117 - PEREIRA H.G.-

Antigenic structure of non infectious adenovirus materials
Nature (1960) 186.57I.

118 - PEREIRA H.G. ALLISON A.C. FARTHING C.P.-

Study of Adenoviruses antigens by immunoelectrophoresis
Nature (I959) 183.895.

119 - PEREIRA H.G.-

A protein factor responsible for the early cytopathic effect of Adenoviruses.
Virology (I958) 6.60I.

120 - PEROL Y.-

Les virus pathogènes de l'arbre respiratoire et leurs méthodes d'identification.
Poumon et Coeur (I965) 20.10.1101)

121 - PLUMMER G.-

The Picornaviruses of man and animals. A comparative rewiev
Prog. Med. Vir. (I965) 7.326.

122 - POIRIER J.-

Les viroses respiratoires.
Gaz. Méd. de Fr. (I963) 3117.

123 - PORTNOY B. ECKERT H.L. SALVATORE M.A.-

Rhinovirus infections in children with acute lower respiratory disease . Evidence against etiological importance.
Pediatrics (I965) 35.6.899.

124 - PROVISIONAL COMMITTEE FOR NOMENCLATURE OF VIRUSES (P.C.N.V.
(Sir Ch. ANDREWES président
P. TOURNIER Secretary. PARIS June I965).
"Proposals and recommendations of the P.C.N.V."

125 - ROBBINS F.C.-

Viruses of the acute communicable diseases.
Pediatrics (1960) 25.I.II9.

126 - REILLY C.M. and Coll.

Studies of acute respiratory illnesses caused by respiratory syncytial virus. Clinical and laboratory findings.
New England. J. Med. (I96I) 264.II76.

127 - REILLY C.M. and Coll.-

Clinical and laboratory findings in cases of respiratory illness caused by Coryzaviruses.
Ann. Int. Med. (I962) 57.4.5I5.

128 - REILLY C.M. and Coll.

ECHO virus type 25 in respiratory illness.
J. of Ped. (I963) 62.4.538.

129 - REYNOLDS E.O.R.-

The effect of breathing 40 per cent oxygen on the arterial blood gas tension of babies with bronchiolitis.
J. of Ped. (I963) 63.6.II35.

130 - ROSEN L.-

Serologic grouping of Reoviruses by hemagglutination-inhibition.
Amer. J. Hyg. (I960) 7I.242.

131 - ROSEN L. EVANS J. SPICKARD A.-

Reovirus infections in human volunteers
Amer. J. Hyg. (I963) 77.29.

132 - ROSS C. AC. STOTT E.J. MAC MICHAEL S. CROWTHER I.A.-

Problems of laboratory diagnosis of respiratory virus infections in childhood.
Arch. Ges. Virusforsch (I964) 14.4.553.

133 - ROUMAGNOUX PAYEN PIROLLET FAVIER DUROSOIR.-

Les pneumopathies des adénoviroses
Rev. Lyon de Méd. (I965) 14.7.277.

134 - ROWE W.P. HUEBNER R.J. HARTLEY J.W. WARD T.G. PARROT R.H.-

Studies on the Adenoïdal-Pharyngeal-conjunctival (APC) group of viruses.
Amer. J. Hyg. (I955) 6I.I97.

135 - ROWE W.P. MICHAELS R.H.-

Isolation of respiratory syncytial virus from patients with pneumonia.
Pediatrics (I960) 26.623.

136 - SABIN A.B.-

Reo-virus.
Science (1959) 130.1387.

137 - SANDIFORD B.R. SPENCER B.-

Respiratory syncytial virus in epidemic bronchiolitis of infants.
Brit. Med. J. (1962) 309.5.88I.

138 - SHEDDEN W.I.H. EMERY J.L.-

Immunofluorescent evidence of respiratory syncytial virus infections in cases of giant cell broncjiolitis in children.
J. Path. Bacteriol (I965) 89.I.343.

139 - SMITH P.F.-

Physiology of pleuropneumonia like organisms and L. type organisms.
Bacter. Rev. (I964) 28.97.

140 - SOHIER R.-

"Diagnostic des maladies à virus"
Flammarion éd. (I964)

a - Infections dues au Myxovirus p. 338
b - Infections dues aux Adénovirus p. 521
c - Virus Entériques et Respiratoires p. 393

141 - SOHIER R.-

"Diagnostic des maladies à virus"
Flammarion éd. (1964)

a - Infections dues à l'agent d'EATON p. 423
b - Infections dues aux "virus basophiles" p. 455

142 - SOHIER R. CHARDONNET Y. PRUNIERAS M.-

Adenoviruses. Status of current knowledge
Prog. Med. Vir. (I965) 7.253

143 - STERNER G.-

Adenovirus infection in childhood. An epidemiological and clinical survey among Swedish chilfiren.
Acta. Paed. (I962) I42.

144 - STILLE W.T. HANTOWER M.J.-

Dosages of various trivalent and monovalent adenovirus vaccines in the prophylaxis of acute respiratory illness.
Amer? J. Hyg. (1964) 80. I.I2I .

145 - STUART HARRIS C.H.-

Influenzae and other virus infections of the respiratory tract.
The Williams et Wilkins
Baltimore Maryland (I963)

146 - STUART HARRIS C.H.-

Viruses of diseases of respiratory tract.
Brit. Med. J. (I962) 53O9-869

147 - TAYLOR ROBINSON D. TYRRELL D.A.J.-

Serological studies on some viruses isolated from common-colds (rhinoviruses)
Brit. J. Exp. Path. (I962) 43.264.

148 - TAYLOR ROBINSON D.-

Laboratory and volunteers studies on some virus isolated from common-colds (rhinoviruses)
Amer. Rev. Resp. Dis. (I963) 88.3.262.

149 - THOMAS F. Jr.-

Epidemic Influenzae.
Amer. Rev. Resp. Dis. (I963) 88.3.I48.

150 - TOBIN J.O.H.-

The isolation of respiratory viruses from children in hospital in South East Lancashire.
Proc. R. Soc. Med. (I963)56 .2.99I.

151 - TOURNIER P. PLISSIER M.-

Le développement intracellulaire du Réovirus observé au microscope électronique.
La Pr. Méd. (1960) 68.683.

152 - TYRRELL D.A.J. BYNOE M.L.-

Some further virus isolations from common-colds.
Brit. Med. J. (I96I). I.393.

154 - TYRRELL D.A.J.-

Discovering and defining the etiology of acute respiratory viral disease.
Amer. Rev. Resp. Dis. (I963) 88.3.77.

154 - VAN DER VEEN J.-

The rôle of Adenovirususes in respiratory diseases.
Amer. Rev. Resp. Dis. (I963) 88.3.I67.

155 - VASQUEZ C. TOURNIER P.-

The morphology of Reovirus.
Virology (I962) I7.503

156 - WALLACE A. CLYDE J.R.-

Studies on EATON agent in tissue cultures.
Amer. Rev. Resp. Dis. (963) 88.3.212.

I57 - WARD T.G.-

Viruses of respiratory tract
Prog. Med. Vir. (I959) 2. 203.

158 - WATERSON A.P. JENSEN K.E. TYRRELL D.A.J. HORNE R.W.

The structure of Parainfluenza 3 virus
Virology (I96I) 14.374.

159 - WILDER C.S.-

Acute respiratory illnesses reported to the U.S. National health survey during I957 to I962.
Amer. Rev. Resp. Dis. (I963) 88.3.I4.

160 - WRIGHT H.T. BECKWITH J.B. GWINNJ L.-

A fatal case of inclusion body pneumonia in an infant infected with Adenovirus type 3.
J. of Ped. (I964) 64.4.528.

161 - WULFF H. KIDD P. WENNER H.A.

Etiology of respiratory infections. Further studies during infancy and childhood.
Pediatrics (I964) 33.I.30.

EDITIONS A.G.E.M.P.
8 RUE DANTE
- PARIS V° -
ODÉ 58-90